

UKRAINIAN BIOCHEMICAL JOURNAL

Volume 86, N 5 (Supplement 2), 2014

Kyiv

Матеріали XI Українського біохімічного конгресу 6-10 жовтня 2014 р., м.Київ

Зміст

III. Медична біохімія

Доповіді	4
Стендові повідомлення	38

IV. Біотехнологія і нанобіотехнологія. Біобезпека

Доповіді	159
Стендові повідомлення	170

V. Біохімія сільськогосподарських тварин і рослин та харчова біохімія

Доповіді	228
Стендові повідомлення	238

VI. Викладання біохімії та суміжних дисциплін і шляхи вдосконалення фахової підготовки молодих учених. Історія біохімічної науки

Доповіді	271
Стендові повідомлення	277
Алфавітний покажчик	287

За організаційну та фінансову підтримку в підготовці і проведенні XI Українського біохімічного конгресу та за публікацію матеріалів конгресу Українське біохімічне товариство висловлює щирю подяку:

- Національній академії наук України (НАНУ)
 - Міністерству освіти і науки України
 - Київському національному університету імені Тараса Шевченка
 - Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України
 - Федерації європейських біохімічних товариств (FEBS)
-
- ЗАТ «МАКРОХІМ» – Хімічна продукція, оснащення лабораторій, Україна
 - ЗАТ «Фармацевтична фірма «ДАРНИЦЯ»
 - ТОВ «Науково-виробнича компанія «ЕКОФАРМ»
 - ТОВ «АЛТ Україна» ЛТД – Передові лабораторні технології
 - ТОВ «АЛСІ» ЛТД – Обладнання сучасних лабораторій, Україна
 - ТОВ «БІОЛАБТЕХ» ЛТД – Обладнання, реагенти, технічна підтримка обладнання, Україна
 - ТОВ «МАНКОР» – Лабораторний посуд та обладнання, Україна
 - ТОВ «Іноваційно-виробнича компанія «РАМІНТЕК», Україна

ІІІ. МЕДИЧНА БІОХІМІЯ

ДОПОВІДІ

**A SEARCH OF EFFECTIVE DRUG COMBINATIONS
FOR COMPLEX TREATMENT MODALITIES OF GLIOBLASTOMA
AND MANTLE CELL LYMPHOMA**

¹AVDIEIEV S., ²GERA L., ³HAVRYLYUK D., ²HODGES R.,
³LESYK R., ⁴RIBRAG V., ⁴VASSETZKY Y., ¹KAVSAN V.

¹*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;*

²*University of Colorado Denver, Anschutz Medical Campus, Aurora, USA;*

³*Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine;*

⁴*Gustave Roussy Institute, Villejuif, France;*

e-mail: stasavdieiev@gmail.com

Despite some progress in radio- and chemotherapy it is still necessary to search new drugs that either destroying tumor cells or facilitating patient state during traditional therapy. This research was undertaken with the aim to evaluate the anticancer action of complexes, which include convenient chemotherapeutics with newly developed compounds.

Solution and solid phase methods for synthesis of peptide and no peptide compounds, cell cultures, MTT-based cell proliferation assay, western blot analysis.

To identify the most effective combinations of compounds for anticancer therapy, several bradykinin antagonists (BA) and thiazolidinone-related substances (TRS) were analyzed for their antiproliferation effect on different glioma and mantle cell lymphoma (MCL) cells. Of all bradykinin antagonists under experiment, BA1 demonstrated the highest growth-suppression activity in rat glioma C6 and human glioblastoma U373 cell lines with LC_{50} 4 μ M and 3.3 μ M, correspondingly. Valuable suppression of ERK1/2 and AKT1 phosphorylation was observed in U373 cells after treatment by this compound, thus, growth repression effect of BA1 could be mediated by the modulation of MAPK- and PI3K-signaling cascades. In clinics, antigliomic temozolomide first-line treatment is only temporary one: huge tumor heterogeneity dictates a therapy directed not to the individual target but to pathological effects that they cause. Most tumors are driven by multiple molecular aberrations that cannot be controlled by a single targeted agent. Combination of 1 μ M BA1 with only 10 μ M temozolomide (TMZ), led to about 80% growth reduction of C6 and U373 cells, compared to temozolomide used alone. Screening of compounds representing thiazolidinones family revealed TRS1 to be potent suppressor of C6 and U373 cells growth (LC_{50} 4 μ M and 15 μ M, correspondingly). TRS2 appeared to be the leader compound in C6 cells with LC_{50} 0.13 μ M. Treatment of MCL cells by this compound and its chemical analogs showed also good results: LC_{50} values for TRS3 (0.27 μ M) and TRS4 (0.16 μ M) are even better than for doxorubicin, the conventional chemotherapeutic drug (0.37 μ M).

Thus, the complex application of TMZ with BA1 drastically improved TMZ effectiveness with significant decreasing of TMZ concentration. Substantial growth inhibition effect after treatment of human and rat glioma cells, as well as MCL cells with several thiazolidinone derivatives are also very promising and need the *in vivo* experiments for the evaluation of these compounds in the preclinical study.

ЗМІНА БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК НА МОДЕЛІ ПУХЛИННОГО РОСТУ

БАБІЙ С. О., ШТЕМЕНКО Н. І.

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: babiy.sveta@gmail.com*

Протипухлинні ліки на основі перехідних металів мають виражену нефротоксичну дію, особливо такі препарати як цисплатин. Відомо, що розвиток карциноми Герена та введення цисплатину спричинюють глибокі порушення в функціонуванні нирок [Бабій, 2011]. Актуальним питанням сучасної біохімії є пошук сполук, введення яких призводить б до гальмування процесів порушення функціонального стану нирок у разі канцерогенезу та хімічної інтоксикації. Такі властивості мають кластерні сполуки ренію, які завдяки наявності почверного зв'язку у структурі молекули, є унікальними потужними антиоксидантами. Отже, метою роботи було визначити вплив кластерних сполук ренію на функціональний стан нирок щурів на моделях пухлинного росту за введення цисплатину та за тетрахлорметанової інтоксикації.

Роботу виконано на моделях карциноми Герена та тетрахлорметанової токсикації щурів. Введення цисплатину та сполук ренію у наноліпосомних формах різними способами проводили за [Shtemenko, 2007; Бабій, 2011]. Досліджували такі параметри: кліренс креатиніну, відносну реабсорбцію води, рівень протеїнурії та ензимурії, ТБК-активних продуктів, тіолів і активності глутатіонзалежних ензимів у нирковій тканині щурів.

Показано, коригуючий вплив комплексних сполук ренію на фільтраційну й концентраційну здатність нирок і гальмування деструктивних процесів у нирках, за розвитку пухлини та введення цисплатину. Встановлено нормалізуючий вплив сполук ренію на процеси окислення протеїнів і пероксидного окислення ліпідів, не залежно від способу введення і структури комплексу. Проведено аналіз системи тіолового захисту нирок за розвитком пухлини та у моделі тетрахлорметанової інтоксикації. Показано, що розвиток новоутворення та введення цисплатину знижувало концентрації відновленого глутатіону (до 2,7 разів, порівняно з контролем), тоді як введення сполук ренію – підвищувало концентрацію глутатіону (в середньому на 50% у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв у гомогенаті нирок. Досліджено інтенсивність ензимурії за розвитку карциноми Герена. Відмічено зростання γ -глутамілтранспептидази в нирковій тканині в усіх дослідних групах до 3,0 разів, а в сечі за розвитку пухлини та введення цисплатину, порівняно з контролем; активність лактатдегідрогенази при розвитку пухлини, введення цисплатину збільшувалась в гомогенаті нирок в 1,5–2,0 рази, а в сечі 1,5–3,0 рази, порівняно з контролем; введення кластерних сполук Ренію знижувало активність γ -глутамілтранспептидази в сечі в 1,4 раза, порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв з одночасним збереженням активності лактатдегідрогенази в нирковій тканині і сечі на рівні контрольного значення в обох експериментальних моделях, що свідчить про збереження цілісності клітин проксимального і дистального відділів каналців і підтверджено гістологічними дослідженнями. Висунуто гіпотезу про механізм захисної дії сполук ренію з почверним зв'язком.

Отримані експериментальні дані свідчать про позитивний коригуючий вплив комплексних сполук ренію на функціональний стан нирок за розвитку пухлин, введення цитостатиків та наявності токсичного впливу і вказують на перспективність використання кластерних сполук ренію в медицині як нетоксичних сполук, що мають протипухлинні і антиоксидантні властивості.

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ТИМІДИНФОСФОРИЛАЗИ ПІД ЧАС РОЗВИТКУ ЕПІТЕЛІАЛЬНО – МЕЗЕНХІМАЛЬНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ РАКУ ЛЕГЕНІВ

БАКУРОВА О. М., БОРЗЕНКО Б. Г., ВАСИЛЕНКО І. В., ВЕРХОВА О. О.

*Донецький національний медичний університет імені Максима Горького, Україна;
e-mail: 32023@mail.ru*

Прогноз ефективності хіміотерапії раку легенів багато в чому пов'язаний з його патоморфологією. Під час пухлинного росту постійно відбуваються процеси біотрансформації, при цьому морфологічна гетерогенність зон пухлини утворюється під впливом мікрооточення та його метаболітів. Розвиток епітеліально-мезенхімальної трансформації (ЕМТ) – показник інвазивності, метастазування, хіміорезистентності. Вважаємо актуальним індивідуальне вивчення патохімічних особливостей пухлин, що зазнають ЕМТ. Так, перспективним є визначення особливостей їх ензиматичної активності, оскільки ряд протеїнів, крім каталітичної функції, мають властивості сигнальних молекул, що беруть участь у програмах ангіогенезу, апоптозу, проліферації. Мета роботи – дослідження активності тимідинфосфорилази (PD-ECGF/ТФ) у пухлинах раку легенів у порівнянні з імуногістохімічними мезенхімальними маркерами (віментин, α -гладеньком'язовий актин), показником проліферативної активності клітин (Кі-67), судинним маркером (CD34).

За своїми ефектами ТФ є поліфункціональним протеїном, оскільки бере участь в реалізації таких тканинних програм як проліферація, ангіогенез, стійкість до апоптозу. Так, за рахунок продуктів зворотної фосфорилазної реакції стимулюється ангіогенез, зокрема хемотаксис ендотеліальних клітин. ТФ є постачальником субстрату (тимідину) для тимідинкінази, що забезпечує синтез ДНК проліферуючих тканин необхідним рівнем тимідилату, при цьому важливою є трансферазна активність ензимів. Спектрофотометрично досліджено види активності ТФ у гомогенатах 25 аденокарцином легенів при різній довжині хвилі по змінам абсорбції тиміну (тимідину) в 0,01 nNaOH. Контроль – віддалені від пухлини тканини країв резекції.

Встановлено кореляцію між фосфорилазною активністю ТФ та CD34 ($r = +0,612$, $P < 0,05$). Так, при низьких рівнях CD34 фосфорилазна активність ТФ (катаболічна, ТФк) становила $42,58 \pm 8,72$ нмоль/хв·мг, а при високих – підвищувалася до $102,89 \pm 15,72$ нмоль/хв·мг, $P < 0,05$. Це добре узгоджується з відомостями про стимулюючий вплив на ангіогенез продуктів реакції. Трансферазна активність ТФ (анаболічна, ТФан) у пухлинах перевищувала більше, ніж в 2 рази активність у віддалених тканинах країв резекції (відповідно, $140,47 \pm 11,25$ та $55,84 \pm 9,72$ нмоль/хв·мг, $P < 0,01$), при цьому експресія Кі-67 не перевищувала 20% клітин, отже була низькою та помірною. За вираженої експресії Кі-67 у пухлинних тканинах (30% та вище), активність ТФан підвищувалася до $313,47 \pm 23,72$ нмоль/хв·мг. У разі порівняння двох видів активності ензиму встановлено, що за максимальної трансферазної активності ТФ, її фосфорилазна активність в пухлинах була помірною або низькою. Отже переважання одного виду активності над іншим може сприяти реалізації пропроліферативних ефектів ТФ, або її ангіогенних стимулів. За наявності ЕМТ у пухлинах зареєстровано експресію віментину, α -гладеньком'язового актину, зростання рівнів CD34, активності ТФк.

Дослідження особливостей активності ТФ у пухлинах раку легенів може бути використано поряд із імуногістохімічними маркерами для вивчення ЕМТ, яка є індивідуальним показником розвитку хіміорезистентності.

ВЛИЯНИЕ НАРУШЕНИЯ СИНТЕЗА ФИЛАГГРИНА НА СЕНСИБИЛИЗАЦИЮ К АНТИГЕНАМ УСЛОВНО- ПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ

БЕЛОЗОРОВ А. П., ЧАСТИЙ Т. В., СОКОЛ О. А., МИЛЮТИНА Е. И.

*ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины», Харьков;
e-mail: abelo@ukr.net*

Филаггрин играет важную роль в формировании эпителиального барьера, соединяя промежуточные филаменты в макромолекулярные комплексы в кератиноцитах зернистого и рогового слоев эпидермиса. Нарушение синтеза филаггрина при мутациях гена *FLG* может приводить к ихтиозу, атопическому дерматиту, бронхиальной астме и ряду других заболеваний. Представляет интерес изучение влияния нарушения синтеза филаггрина на различные патогенетические звенья атопического дерматита, на примере синтеза специфических IgE-антител. В работе изучали специфические IgE к антигенам грибов *Malassezia* и *Candida* у больных атопическим дерматитом и экземой с миссенс мутацией гена *FLG*.

Культуры грибов *Malassezia* были получены с поверхности кожи больных атопическим дерматитом, видовая характеристика культур проведена методом секвенирования внутренних транскрибируемых спейсеров гена рибосомальной РНК. Антитела класса IgE к суммарному антигену из культуры *M. sympodialis* 97 определяли иммуноэнзимным методом с использованием конъюгатов моноклональных антител с пероксидазой хрена фирмы Полигност (РФ). Изучены образцы сыворотки 177 больных экземой, 45 – атопическим дерматитом, 36 – аллергическим дерматитом и 96 – контрольных лиц. Мутации *2282del4* и *R501X* гена *FLG* выявляли методом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов.

Специфические IgE к суммарным антигенам условно-патогенных грибов *Candida* или *Malassezia* были обнаружены у $40,0 \pm 8,3\%$ больных атопическим дерматитом и $18,2 \pm 3,9\%$ больных экземой. При наличии у больных мутаций гена филаггрина *R501X* или *2282del4* вероятность образования IgE-антител значительно увеличивалась. При атопическом дерматите специфические антитела к антигенам грибов были обнаружены в сыворотке $75,0 \pm 7,3\%$ больных с выявленными мутациями, и у $33,3 \pm 8,0\%$ лиц без мутации ($P < 0,05$). У больных экземой положительными по антителам были $58,3 \pm 5,0\%$ больных с мутациями и только $12,6 \pm 3,6\%$ в группе без мутаций ($P < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что даже при частичном нарушении синтеза филаггрина у лиц, гетерозиготных по мутациям *R501X* или *2282del4*, значительно повышается вероятность сенсibilизации к антигенам условно-патогенных грибов. Однако мутации не всегда сопровождаются сенсibilизацией, это указывает на участие в этом процессе дополнительных факторов, связанных, по-видимому, с иммунными механизмами, которые обеспечивают реализацию IgE-ответа на антигены условно-патогенных грибов, проникающих в кожу из-за повышения проницаемости эпидермального барьера.

EFFICACY OF COMBINED ACTION OF METHYLENE BISPHOSPHONIC ACID AND VITAMIN D₃ IN EXPERIMENTAL ALIMENTARY OSTEOPOROSIS

VELIKY M. M., APUKHOVSKA L. I., KOMISARENKO S. V.

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv;
e-mail: veliky@biochem.kiev.ua*

Osteoporosis is known to be characterized by the impairment of the number and activity of bone remodeling units due to increased activity of osteoclasts and decreased activity of osteoblasts that is accompanied by

increased resorption (demineralization) and inhibition of bone osteosynthesis (bone formation). The idea of the present work is to experimentally support synergism of action of vitamin D₃ and bisphosphonate – methylene bisphosphonic acid disodium salt (MBPA) as the constituents of the drug «Mebivid» (developed at the Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine) in experimental nutritional (alimentary) osteoporosis in rats. The active ingredients of the pharmaceutical composition possess complementary action. In particular, vitamin D₃ and its metabolites are the activators of bone formation, and bisphosphonates inhibit osteoclast activity and reduce bone resorption.

It was established that alimentary osteoporosis is associated with a significant inhibition of vitamin D₃ metabolism as almost 3-fold decrease in the serum content of 25OHD₃ (biomarkers of vitamin availability) was found. Hepatocytes revealed the existence of two vitamin D₃ 25-hydroxylase systems (microsomal and mitochondrial), operating with the maximal velocity at different concentrations of substrate and vary in activity and regulation. In osteoporosis, it was shown a marked decrease in the activity and expression of the mitochondrial isoform CYP27A1, whereas the activity and tissue content of microsomal isoform CYP2R1 of vitamin D₃ 25-hydroxylase were increased.

Vitamin D₃ deficiency and inhibition of hydroxylation led to disruption of calcium homeostasis. Progressing hypocalcemia and hypophosphatemia associated with D-hypovitaminosis were accompanied by increased activity of the bone isoform of alkaline phosphatase – an enzyme that reflects the functional activity of osteoblasts. Since the process of bone remodeling is regulated by osteokine system, serum contents of regulatory proteins RANKL (receptor activator of nuclear transcription factor NF-κB ligand) and OPG (osteoprotegerin) were investigated. A significant reduction of OPG with concomitant increase in RANKL content in the blood serum of diseased rats indicates the prevalence of bone resorption process over osteosynthesis. Osteoporotic alterations were further confirmed by osteometric and histological studies. Osteometric studies revealed significant loss of mineral components in bone tissue and bone mass, decreased length and width of the femoral and tibial bones. Histological studies suggest abnormalities of structural and functional organization of bone and epiphyseal cartilage that is manifested by changes of the structure and formation of osteon and surrounding bone plates, slowing of vessels' ingrowth, inhibition of proliferation and ossification of cartilage cells.

The content of 25OHD₃ in blood serum significantly increased but did not reach control values after vitamin D₃ administration to osteoporotic rats. Combined administration of vitamin D₃ and MBPA revealed pronounced synergistic effect. Normalization of mineral metabolism, bone and cartilage tissue structure, increased phagocytic activity of granulocytes and monocytes, intensification of reactive oxygen and nitrogen species formation in blood phagocytes strongly correlated with restoration of 25OHD₃ content.

In summary, the present study demonstrated synergy of MBPA that inhibits bone resorption and vitamin D₃, as the activator of osteosynthesis. That might be promising for the development of further strategies of chemical design and synthesis of nitrogen-containing bisphosphonates, including their pirazole-containing analogs, with higher biological efficiency in prevention and treatment of osteoporosis.

ВПЛИВ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ НА ІНДУКОВАНІ ДИКЛОФЕНАКОМ ЗМІНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА У ЩУРІВ З АВТОІМУННИМ ЗАПАЛЬНИМ ПРОЦЕСОМ

ВОЛОЩУК Н. І., ТАРАН І. В., МЕЛЬНИК А. В., ЗАІЧКО Н. В.

*Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail: anderneting@gmail.com*

Слизова оболонка шлунка (СОШ) – одна з мішеней небажаної дії нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ). Незважаючи на те, що НПЗЗ є лідером продаж на світовому фармацевтичному ринку, питання покращення безпеки лікування цими препаратами залишається важливим для сучасної медицини. Встановлено, що важливу роль в цитопротекції, регуляції судинного тону, процесів за-

палення та апоптозу відіграє гідрогенсульфід (H_2S). Проте залишається невідомим його здатність попереджувати НПЗЗ-індуковану гастротоксичність. Метою роботи було вивчити вплив донору гідрогенсульфіду ($NaHS$) на індуковані диклофенаком макроскопічні та біохімічні зміни слизової оболонки шлунку (СОШ) у щурів з ад'ювантним артритом.

Досліди виконані на 40 статевозрілих щурах-самцях масою 200–240 г віварію Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Ад'ювантний артрит (АА) моделювали у 30 щурів введенням під подошвенний апоневроз задньої лапи 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда (Sigma, США). Починаючи з 14-ої доби тварини з АА ($n = 10$) були розподілені на три групи по 10 тварин у кожній: 1 група – отримувала диклофенак (8 мг/кг, і.г, 7 діб), 2 група – диклофенак + $NaHS$ (3 мг/кг і.п, 7 діб), а 3 група – контроль (не отримували препарати). У СОШ визначали вміст малонового діальдегіду (МДА), карбонільних груп протеїнів (КГП), фосфатидилхоліну (ФХ), лізофосфатидилхоліну (ЛФХ), глікозаміногліканів (ГАГ) та вміст H_2S . Токсичний вплив диклофенаку на СОШ оцінювали шляхом визначення множинності, важкості виразкоутворення та виразкового індексу.

Встановлено, що на тлі АА в СОШ активуються процеси пероксидації ліпідів та протеїнів (вміст МДА та КГП зростає на 22–25%, $P < 0,05$), реєструється окислювальне пошкодження клітинних мембран (рівень ФХ зменшується на 18,5%, а вміст ЛФХ збільшується на 19%) порушується утворення слизу (вміст ГАГ зменшується на 14,2%, $P < 0,05$) та достовірно зростає вміст H_2S (на 12%, $P < 0,05$). Введення диклофенаку поглиблює ініційовані АА порушення біохімічних процесів у СОШ: достовірно зменшується вміст H_2S (на 21,5%, $P < 0,05$), посилюються процеси окисної модифікації ліпідів та протеїнів (вміст МДА та КГП зростає на 14,5–18,9%, $P < 0,05$), поглиблюється пошкодження клітинних мембран (рівень ФХ зменшується на 21,6%, а вміст ЛФХ збільшується на 21,1%, $P < 0,05$) та зростає ступінь порушень продукції слизу (вміст ГАГ зменшується на 21,5%, $P < 0,05$), відносно тварин з АА. За цих умов множинність та важкість виразкоутворення становили $29,5 \pm 2,15$ та $3,5 \pm 0,11$, а виразковий індекс – 128,6.

Введення $NaHS$ суттєво зменшує прояви гастротоксичної дії диклофенаку на тлі ад'ювантного артрити. Так, у групі тварин, які отримували диклофенак та $NaHS$ вміст H_2S у СОШ, активність процесів пероксидації ліпідів та протеїнів, фосфоліпідний спектр та утворення слизу наближались до рівня інтактних тварин. Поряд з цим множинність та важкість виразкоутворення, а також виразковий індекс були відповідно в 3,8; 2,5 та 3,5 рази меншими ($P < 0,05$), порівняно з тваринами, яким не вводили $NaHS$.

Таким чином, використання комбінації диклофенаку натрію з донором гідрогенсульфіду зменшує ризик розвитку гастротоксичності НПЗЗ за умов ад'ювантного артрити, що є підґрунтям для подальшого дослідження молекулярних механізмів, які інтегровані в цей процес.

СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗНА ТА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНА АКТИВНОСТІ ТА ВМІСТ ТБК-АКТИВНИХ ПРОДУКТІВ У МІТОХОНДРІАЛЬНІЙ ФРАКЦІЇ ГЕПАТОЦИТІВ ПРИ АЛОКСАНОВИМУ ДІАБЕТИ

ГЕРУШ І. В., БЕВЗО В. В., ФЕРЕНЧУК Е. О.

*Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна;
e-mail: gerushiv@ukr.net*

Цукровий діабет є одним із найбільш поширених захворювань сучасного суспільства. Згідно із сучасними даними, у патогенезі цукрового діабету, поряд із наявністю гіперглікемії, недостатністю функції β -клітин, беруть участь додаткові групи факторів ризику: дисліпідемія, порушення коагуляції, окислативний стрес, який є наслідком підвищеного автоокислення глюкози, неензиматичного глікозилювання протеїнів. Такі метаболічні порушення, що спостерігаються при гіперглікемічних станах, можуть призводити до гіпоксії та до змін у системі енергетичного забезпечення клітин організму.

Враховуючи домінуючу роль печінки в адаптивних реакціях організму до стресових впливів, зокрема, при експериментальному цукровому діабеті, метою роботи було вивчення інтенсивності вільнорадикальних процесів та сукцинатдегідрогеназної активності у мітохондріальній фракції печінки щурів за алоксанового цукрового діабету.

Дослідження проводилися на білих безпородних щурах масою 150–180 г, які утримувалися на стандартному раціоні в віварії. Індукцію діабету в дослідних тварин здійснювали введенням внутрішньочеревно 5%-го розчину алоксану (з розрахунку 100 мг на кілограм маси тіла тварини) в 0,9% розчині NaCl. Контрольні тварини утримувалися при звичному режимі харчування, без введення алоксану. Мітохондріальну фракцію із гомогенату печінки виділяли методом диференційного центрифугування.

Інтенсивність ліпопероксидації у мітохондріях гепатоцитів щурів оцінювали за накопиченням тіобарбітуратактивних продуктів, основним із яких є малоновий діальдегід. Встановлено, що при алоксановому цукровому діабеті в мітохондріальній фракції печінки щурів зростає інтенсивність вільнорадикальних процесів, про що свідчить збільшення вмісту малонового діальдегіду вдвічі порівняно із контрольною групою тварин. Значне зростання продуктів ліпопероксидації можливе в результаті посилення генерації супероксид аніон-радикалу, на що вказує супероксиддисмутазна активність, яка на 75% перевищує показники, встановлені для інтактних тварин. Зміна прооксидантно-антиоксидантного стану мітохондрій печінки щурів може бути основною причиною та одним із первинних порушень осмотичної стійкості мітохондрій, підвищення проникливості мітохондріальних мембран, і, як наслідок, негативного впливу на процеси енергозабезпечення організму при алоксановому цукровому діабеті. Енергосинтезуючу функцію мітохондрій печінки за умов експериментального цукрового діабету оцінювали за сукцинатдегідрогеназною активністю, яка у дослідній групі тварин збільшувалася в 1,5 раза. Високий рівень сукцинатдегідрогеназної активності вказує на активацію електронного транспорту через альтернативні шляхи, зокрема, через сукцинат, і відображає активацію компенсаторних метаболічних потоків, що дозволяє зберігати енергосинтезуючу функцію цитохромної ділянки та здатність до окисного фосфорилування. Зміна метаболічних потоків, які постачають відновлювальні еквіваленти в дихальний ланцюг, є однією з ранніх ознак кисневої недостатності.

Отже, інтенсифікація вільнорадикальних процесів, зростання супероксиддисмутазної активності мітохондрій печінки щурів за алоксанового цукрового діабету, що супроводжується активацією сукцинатдегідрогенази, можна розглядати як компенсаторну реакцію організму на окислювальний стрес, обумовлений гіперглікемією.

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА ОСНОВНІ ЕНЗИМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ, ВМІСТ НІТРОТИРОЗИНУ ТА АКТИВНІСТЬ АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ У ПЛАЗМІ КРОВІ ТА РІЗНИХ ВІДДІЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ САМОК ЩУРІВ ЗА ДІЇ СКОПОЛАМІНУ

¹ГОРІДЬКО Т. М., ¹МЕГЕДЬ О. Ф., ¹КОСЯКОВА Г. В., ¹БЕРДИШЕВ А. Г.,
²ХОЛІН В. О., ²ПЕСЧАНА К. О., ¹БАЗИЛЯНСЬКА В. Р., ¹ГУЛА Н. М.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
²ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», Київ;
e-mail: TanGoRi@ukr.net

Хвороба Альцгеймера (ХА) – нейродегенеративне захворювання, що має гетерогенну природу. Вважають, що окисний стрес може бути одним із молекулярних механізмів, які опосередковують холінергічну нейродегенерацію за ХА. Скополамін, який є антагоністом мускаринових рецепторів, проявляє центральну холіноблокуючу дію та призводить до розвитку оксидативного стресу в мозку та

погіршення пам'яті в людини та у тварин. Існує багато доказів, що ендоканабіноїдна система бере участь у регуляції процесів, які мають місце за прогресування ХА, зокрема в регуляції рівня ацетилхоліну, запаленні та окисному стресі. Насичені N-ацилетаноламіни (NAE) не є типовими ендоканабіноїдами і не активують канабіноїдних рецепторів, але проявляють ефекти подібні до ендоканабіноїдів. Метою роботи було вивчення впливу одного з насичених NAE – N-стеароїлетаноламіну (NSE) на основні ензими антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатіонпероксидаза (ГП)), вміст нітротирозину та активність ацетилхолінестерази (АХЕ) у плазмі крові та різних відділах головного мозку старих самок шурів за дії скополаміну.

Отримані дані свідчать, що за введення скополаміну (1 мг/кг маси тіла щоденно протягом 3 днів, внутрішньочеревинно) у фронтальній корі головного мозку шурів вірогідно зростає як кількість, так і активність СОД, зменшується кількість нітротирозину. У гіпокампі шурів скополамін не змінює ні кількості, ні активності СОД. Попереднє введення тваринам NSE (1 мг/кг маси тіла протягом 2 днів та 5 мг/кг маси тіла протягом 3 днів за 20 хв до введення скополаміну, *per os*) не знімає ефекту скополаміну на кількість СОД та нітротирозину, але сприяє вірогідному зниженню активності СОД у фронтальній корі. У плазмі крові самок шурів за дії скополаміну відбувається накопичення ТБК-активних продуктів, знижується активність ГП та майже в 4 рази зростає активність АХЕ. Попереднє введення піддослідним тваринам NSE сприяє вірогідному зростанню активностей СОД, КАТ, ГП та запобігає зміні активності АХЕ у плазмі крові.

Таким чином, на моделі холінергічного дефіциту та когнітивної патології у тварин показано, що N-стеароїлетаноламін здатен пригнічувати активність ацетилхолінестерази у плазмі крові та модулювати стан системи антиоксидантного захисту у фронтальній корі головного мозку та плазмі крові старих самок шурів. Отримані ефекти NSE свідчать про його виражений потенціал для фармакотерапії ХА.

МОЛЕКУЛЯРНА ФАРМАКОЛОГІЯ БОЛЮ: НОЦИЦЕПТОРИ, МЕМБРАНИ, АНТИОКСИДАнти

ГУБСЬКИЙ Ю. І., БУХТІАРОВА Т. А.

*Інститут фармакології та токсикології НАМН України, Київ;
e-mail: iurigala@ukr.net*

Актуальною проблемою біохімічної фармакології є вивчення молекулярних та клітинних механізмів розвитку гострого та хронічного болю, що супроводжує цілий ряд найпоширеніших патологічних станів, та пошук на цій основі нових ефективних лікарських засобів (ЛЗ) аналгетичної дії. Разом з тим, розв'язання клітинних та молекулярних механізмів болю, а потому і його ефективний фармакологічний контроль за допомогою аналгетиків неопіоїдної природи, залишається складним та невирішеним завданням сучасної клінічної та молекулярної фармакології.

Дослідженнями останніх десятиріч встановлено, що в основі розвитку як гострого болю, так і хронічного больового синдрому, лежить складна взаємодія між молекулами-альгогенами та ноцицептивною системою, що сприймає різні види больових подразнень (механічні, хімічні, термічні) та трансформує їх у нейрохімічний імпульс, що модулює надходження больових подразнень до вищих рівнів ЦНС. Нами було висловлено припущення, що як хронічний, так і гострий сильний біль призводить до системної патофізіологічної реакції цілісного організму з розвитком біохімічного синдрому оксидативного стресу (ОС), накопиченням ROS, RNS і чисельними зсувами метаболічних процесів в організмі.

Виходячи з цих концептуальних уявлень, метою наших експериментальних досліджень, проведених у відділах біохімічної фармакології та фармакології протизапальних засобів ІФТ НАМН України, стало вивчення можливостей впливу ЛЗ (клас антиоксидантів) на течію больового синдрому (БС) і розвиток оксидативного стресу у експериментальних тварин з гострим ноцицептивним болем

та модифікую чого впливу антиоксидантів (АО) стосовно розвитку БС та фармакологічних ефектів ЛЗ анальгетичної дії.

Згідно з отриманими даними, експериментальний больовий синдром запального генезу, модельований на дорослих білих щурах, супроводжується змінами активності процесів ПОЛ як в сироватці крові, так і в еритроцитах та головному мозку піддослідних тварин, а також суттєвою активацією процесів обмеженого протеолізу і збільшенням вмісту в крові окремих фракцій середньо-молекулярних пептидів, що являє собою біохімічні зміни, характерні для ОС. Методами флуоресцентного зондування та спектрофотометрії виявлені зміни біофізичних властивостей – мікрівязкості та плинності ліпідного бішару, заряду поверхні та молекулярної організації ліпідно-протеїнового матриксу мембран еритроцитів щурів за гострого больового синдрому – ноцицептивного болю запального генезу. В умовах больового синдрому спостерігається також зростання величини позитивного заряду поверхневих ділянок мембран еритроцитів, на що вказує збільшення майже в два рази значень константи зв'язування 1,8-АНС та ущільнення структури протеїнових молекул і порушення протеїн-ліпідних взаємодій. Досліджені також особливості фізико-хімічних механізмів взаємодії лікарських засобів з класу НПЗЛЗ із біомембранами за їх пероксидної модифікації при БС, що може суттєвим чином впливати на фармакодинаміку і фармакокінетику анальгетиків.

Введення тваринам із БС потужного антиоксиданту α -токоферолу та синтетичного АО мексидолу зменшувало вираженість больового синдрому, який оцінювали за поведінковими реакціями і за рівнем порушень показників ПОЛ, протеолізу та біофізичного стану мембран еритроцитів. На підставі проведених досліджень запропоновано схему модулюючого впливу АО на розвиток структурно-функціональних порушень в біомембранах при ОС, ініційованому розвитком БС. Проводяться подальші дослідження впливу на вираженість фізіологічних та біохімічних змін у тварин з БС ЛЗ та ФАС із класів ненаркотичних анальгетиків та НПЗЗ, а також модифікуючого впливу щодо означених процесів сполук антиоксидантної дії.

EFFECT OF PARP-1 INHIBITORS ON NAD-DEPENDENT PROCESSES IN BRAIN NUCLEI OF DIABETIC RATS

GUZYK M., DONCHENKO G., KUCHMEROVSKA T.

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua*

Numerous experimental arguments appeared suggesting that the abnormal endogenous ADP-ribosylation of proteins might play a crucial role in the development of diabetic neuropathy and its regulation may represent a novel pharmacological approach to the treatment complications. However, a link between changes in extranuclear proteins poly-ADP-rybosylation and diabetes-related brain dysfunctions still need to be verified. This study aimed to evaluate of functional alterations in brain nuclei and find out whether PARP inhibitors can influence on them. All studies were carried out after 10 weeks of diabetes (streptozotocin, 55 mg/kg of body weight, i. p.) in male Wistar rats treated for 14 days with or without 1,5-isoquinolinediol (ISO, 3 mg/kg/day, i. p.) and nicotinamide (NAM, 100 mg/kg/day, i. p.). Previously we have shown that diabetes in rats accompanied by oxidative and nitrosative stress in brain. It causes overactivation of PARP-1 in response of DNA strand breaks. NAD/NADH ratio in brain of diabetic rats was reduced to 72.3 vs 184.2 in control. Despite the fact that ISO and NAM administration increased this ratio to 91.1 and 107.5 vs diabetic group respectively, their effect was not significant on level of poly-ADP-ribosylated proteins and ratio of PARP-1 cleavage products to total PARP-1 which was slightly increased in brain nuclei of diabetic rats. We also observed more than 2-fold increase in level of NAD-dependent SIRT2 deacetylase in diabetic groups as compared to control. PARP inhibitors did not attenuate of this parameter. It was found reduced SIRT1 level in diabetic rats and group treated by NAM as compared to control. At the same time, ISO supplementation to diabetic rats caused enhancement of SIRT1 level. Decreased SIRT1 activity can be explained by overexpression of NAMPT mRNA in diabetic

rats. Moreover, both groups treated by inhibitors showed a significant increase in the expression of total Akt and CtBP1 protein levels which play important role in transcriptional regulation. Our findings extent the notion that alterations in poly-ADP-ribosylation may be involved as a possible mechanism responsible for the impaired brain functions in diabetes and suggest that 1,5-isoquinolinediol and nicotinamide may improve brain functions not only through PARP-1 inhibition but also through other NAD⁺-dependent processes which involved in multiple survival signaling pathways.

ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ЕФЕКТ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОМУ СТАНІ У ЩУРІВ

ГУЛА Н. М., КОСЯКОВА Г. В., БЕРДИШЕВ А. Г., ОНОПЧЕНКО О. В.,
МЕГЕДЬ О. Ф., КЛИМАШЕВСЬКИЙ В. М.

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: kosiakova@hotmail.com

N-стеароїлетаноламін (NSE) представник класу мінорних ліпідів – N-ацилетаноламінів (NAE), яких за функціональними характеристиками відносять до ендоканабіноїдної системи організму. Дослідженнями останніх років доведено, що ендоканабіноїди залучені до регуляції багатьох процесів в організмі. NAE, що містять у своєму складі насичений ацильний залишок, є нетиповими ендоканабіноїдами, оскільки не активують канабіноїдних рецепторів, проте виявляють канабіміметичні властивості, механізми реалізації яких знаходяться у фокусі уваги наших досліджень. Відомо, що запалення є одним із провідних патогенетичних факторів багатьох захворювань в тому числі і діабету 2 типу. Зростання пулу вільних жирних кислот є основним фактором, що індукує запальний процес за цієї патології. Сьогодні доведена роль ядерного фактора NF-κB у контролі експресії генів, що беруть участь в ініціації та розвитку запалення. Метою даної роботи було дослідження впливу NSE (50 мг/кг, протягом 10 днів) на вміст TNFα в сироватці крові, рівень сумарних поліненасичених жирних кислот (ЖК) та вміст ТБК-реагуючих сполук в печінці та плазмі крові щурів за експериментальної інсулінорезистентності (ІР), спричиненої розвитком аліментарного ожиріння. Крім того, в дослідженнях *in vitro* за допомогою методів конфокальної мікроскопії було вивчено вплив NSE на транслокацію ядерного фактора NF-κB у ядро LPS-стимульованих перитонеальних макрофагів щурів з інсулінорезистентним станом.

Результати досліджень показали істотне зниження відсоткового вмісту сумарних поліненасичених ЖК в печінці ($2,86 \pm 0,2$ проти $10,02 \pm 1,9$ у контролі, $P < 0,05$) та в плазмі крові ($11,42 \pm 2,65$ проти $18,99 \pm 2,81$ у контролі, $P < 0,05$) щурів з ІР. Застосування NSE спричиняло зростання рівня поліненасичених ЖК у печінці ($3,98 \pm 0,42$ проти $2,86 \pm 0,2$, $P < 0,05$) та нормалізацію в плазмі крові ($26,475 \pm 5,565$ проти $11,419 \pm 2,653$, $P < 0,05$) щурів з ІР. Зниження вмісту поліненасичених ЖК пов'язано з активацією процесів ПОЛ за ІР, свідченням чого є зростання вмісту ТБК-активних продуктів у печінці щурів ($1195,33 \pm 90,16$ нмоль МДА/г тканини проти $565,58 \pm 163,8$ нмоль МДА/г тканини у контролі, $P < 0,05$). Введення щурам із ІР NSE спричиняло суттєве зниження рівня ТБК-активних продуктів у печінці ($826,17 \pm 95,4$ нмоль МДА/г тканини, $P < 0,05$). У сироватці крові щурів із ІР виявлено вірогідне зростання вмісту прозапального цитокіну TNFα ($291,27 \pm 20,95$ пг/мл проти $88,696 \pm 3,63$ пг/мл у контролі, $P < 0,05$) та нормалізацію його вмісту за дії NSE ($79,615 \pm 3,24$ пг/мл, $P < 0,05$). У дослідженнях *in vitro* було показано, що розвиток інсулінорезистентного стану у щурів спричиняє зростання вмісту p65 в ядрах перитонеальних макрофагів з $36,179 \pm 4,08\%$ у контролі до $66,52 \pm 1,93\%$, $P < 0,05$. Інкубація клітин із LPS протягом 30 хв зумовлювала збільшення вмісту p65 в ядрах макрофагів до $78 \pm 2,75\%$, $P < 0,05$. Попередня інкубація клітин із суспензією NSE 10^{-7} М протягом 15 хв, як перед інкубацією з LPS, так і після неї, призводила до зменшення транслокації NF-κB у ядро макрофагів до $51,32 \pm 2,4\%$ та $51,59 \pm 2,6\%$, відповідно, $P < 0,05$.

Таким чином, результати наших досліджень свідчать про виражену антизапальну дію NSE за умов експериментального інсулінорезистентного стану у щурів.

МОЖЛИВІ МЕХАНІЗМИ ПРОТИПУХЛИННОЇ ДІЇ ФЕНУГРЕКУ

¹ЖИЛЕНКО В. В., ¹ЗАЛЕТОК С. П., ¹ЖУРАВЕЛЬ О. В., ²МАКАЙ Ш.

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;

²Університет Західної Угорщини, Мошонмадяровар;
e-mail: gilenkovv@yandex.ru

У сучасній онкології значна увага приділяється пошуку нових протипухлинних препаратів рослинного походження. Цим вимогам відповідає фенугрек (*Trigonella Foenum Graecum* L.), який є джерелом багатьох біологічно активних сполук та проявляє антиоксидантні властивості. Останні дані літератури, в яких представлені дослідження, в основному, на моделях *in vitro*, свідчать про протипухлинну дію фенугреку, але механізми протипухлинних ефектів фенугреку вивчені недостатньо. Метою даної роботи було оцінити вплив порошку з насіння фенугреку на ріст різних перещеплених пухлин у експериментальних тварин та з'ясувати можливі механізми його протипухлинної дії.

Дослідження проводили на мишах лінії C57Bl/6 та CDF1 з перещепленими карциномою молочної залози Ca755, карциномою легені Льюїс, лімфоїдною лейкемією L1210 та лімфоцитарною лейкемією P388; на нелінійних щурах із перещепленими вихідним або резистентним до дії цисплатину або доксорубіцину субштамами карциноми Герена та карциносаркомою молочної залози W256; на мишах високоракової лінії C3H/Sn. Дослідження виконані з дотриманням основних вимог щодо утримання та роботи з лабораторними тваринами і положень, викладених у Європейській конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986 р.). У роботі використано порошок із насіння фенугреку (Інститут рослинництва, відділення медичних і ароматичних рослин, Угорщина). Дослідні тварини отримували фенугрек щоденно разом із стандартним комбікормом по 250 мг/кг маси (або по 0,2 та 2,0 мг/кг маси у дослідах з високораковою лінією мишей C₃H/Sn) з моменту перещеплення пухлин до кінця експерименту. Контрольні тварини утримувались на стандартному раціоні годування. Протипухлинний ефект оцінювали за відсотком гальмування росту пухлин. Антиоксидантні властивості фенугреку оцінювали за рівнем малонового діальдегіду (МДА) в органах тварин та за швидкістю генерування в мітохондріях супероксидних радикал-аніонів (із застосуванням методу ЕПР). Вміст поліамінів визначали за допомогою методу рідинної хроматографії високого тиску (ВЕРХ), експресію залежних від NF-κB генів визначали за допомогою Вестерн-блотингу та поверхневого плазмонного резонансу. Рівень загального метилювання ДНК визначали при застосуванні методів ВЕРХ, ELISA і флуоресцентного методу за протоколом виробника.

Встановлено, що фенугрек проявляє більш сильні протипухлинні властивості щодо гормонозалежних пухлин (карцинома молочної залози Ca755), суттєво зменшує кількість спонтанних пухлин молочної залози у мишей лінії C₃H/Sn та призводить до підвищення тривалості життя тварин. Виявлено, що фенугрек пригнічує у щурів ріст карциноми Герена та її резистентних до дії цитостатиків субштамів. Показано, що фенугрек має антиоксидантні властивості (знижує рівень МДА та швидкість генерування в мітохондріях супероксидних радикал-аніонів) та покращує гематологічні показники (збільшує кількість еритроцитів та підвищує рівень гемоглобіну) у експериментальних тварин. Виявлено, що гальмування росту пухлин під впливом фенугреку супроводжується зменшенням у пухлинах вмісту поліамінів – маркерів росту і проліферації клітин. Встановлено, що фенугрек призводить до підвищення рівня загального метилювання ДНК у клітинах пухлин. Показано також, що одним із молекулярних механізмів протипухлинної дії фенугреку може бути його інгібуючий вплив на активацію фактора транскрипції NF-κB та експресію генів, залежних від NF-κB.

Одержані дані свідчать, що фенугрек має перспективу для його застосування як засобу супроводу при комплексній терапії онкологічних хворих.

AGE RELATED CHANGES OF HYDROGEN SULPHIDE METABOLISM IN RATS

ZAICHKO N. V., OLHOVSKIY O. S., PALAMARCHUK I. V., YURCHENKO P. A.

*Vinnitsa National Pirogov Memorial Medical University, Ukraine;
e-mail: nzaichko@mail.ru*

Hydrogen sulfide is a signaling molecule that is actively synthesized in the tissues and is involved in the regulation of vascular tone, neuromodulation, cytoprotection, inflammation and apoptosis. In recent years, new data on animal and human hydrogen sulfide metabolism and function under the action of various endogenous and exogenous factors were collected. But it remains unclear how does metabolism of hydrogen sulfide change in different tissues. Study object: aged related changes of hydrogen sulfide content, activity of hydrogen sulfide biosynthesis and catabolism in rats' tissues.

Tissue was taken from three groups of male Wistar rats: 1-2, 6-8 and 24-26 months of age ($n = 60$). Tissue levels of the free and acid-labile hydrogen sulfide (Wiliński B., 2011) and activity of cystathionine gamma-lyase (CSE), cystathionine beta-synthase (CBS) and cysteine aminotransferase (CAT), thiosulfate-dithiol sulfurtransferase (TST), sulfite oxidase, thioredoxin reductase in myocardium, aorta, kidney and liver were measured. CSE kinetic parameters (K_m for cystein and V_{max}) in rats' myocardium were analyzed.

Immature rats (1-2 months) possessed hydrogen sulfide in myocardium, aorta, brain, liver, kidneys respectively 2.76 ± 0.12 ; 1.53 ± 0.07 ; 1.82 ± 0.09 ; 3.73 ± 0.14 ; 3.98 ± 0.21 ($M \pm m$, nmol/mg of protein). Hydrogen sulfide in myocardium, aorta, brain and kidneys of mature (6-8 months) and aged (24-26 months) rats was lower than in immature rats on 10-15% (2.37 ± 0.10 ; 1.28 ± 0.06 ; 1.52 ± 0.08 ; 3.27 ± 0.16 ; $P < 0.05$) and 25-30% (2.05 ± 0.09 ; 1.12 ± 0.05 ; 1.28 ± 0.06 ; 2.74 ± 0.13 ; $P < 0.05$). Activity of hydrogen sulfide synthesizing enzymes CSE, CAT/3MST, TST in myocardium, aorta, brain and kidneys of aged rats was 30-50% lower than mature and immature rats possessed. Enzymes activity of hydrogen sulfide utilization (sulfite oxidase, thioredoxin reductase) in myocardium and aorta of aged rats was significantly lower (on 15-30%) than in others age groups. Aging significantly changed CSE kinetic parameters in desulfurization of cystein in myocardium and aorta. 24-26 months rats had significantly higher K_m (on 18-22%, $P < 0.05$) and lower V_{max} (on 14-16%, $P < 0.05$), than in rats of 6-8 and 1-2 months age. It was not found significant age-related differences in hydrogen sulfide metabolism in rats liver.

Thus, age-related imbalance between hydrogen sulfide synthesis, utilization and storage results in hydrogen sulfide decreased in the content in different organs. The major age-related changes of hydrogen sulfide were seen in the myocardium and aorta however the minor changes were in the liver. The role of CSE/hydrogen sulfide pathway is rising in myocardium, aorta and other organs within aging.

ИНДЕКС ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА КАК ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ РЕЦИДИВОВ У БОЛЬНЫХ С ПИЕЛОНЕФРИТОМ

КОЛЕСНИК Н. А., КОРОЛЬ Л. В., СТЕПАНОВА Н. М., МИГАЛЬ Л. А.

*ГУ «Институт нефрологии НАМН Украины», Киев;
e-mail: lesyakorol@meta.ua*

Пиелонефрит (ПН) является одним из самых распространенных инфекционных заболеваний. Более чем у 30% больных развивается рецидивирующее течение ПН (более 3 эпизодов в году), что со временем может привести к стойкой утрате функции почки. Необходимость определения предик-

торов хронізації запалительного процесу в нчках і предикторів рецидивування являється актуальною. В якості предиктора хронізації ПН ще до початку терапевтичних заходів пропонується визначити індекс окислювального стресу (ІОС) – інтегрального показателя, який об'єктивно відображає взаємозв'язок між процесами пероксидації і антиоксидантним відповіддю. Мета дослідження – оцінити можливість визначення ІОС в сировотці крові жінок з ПН як предиктора ризику розвитку рецидивуючого течення хвороби.

Обстежено 117 жінок з ПН: 74 пацієнтки з рецидивуючим ПН (група 1) і 43 пацієнтки з нерцидивуючим ПН (група 2). Контрольна група – 30 умовно здорових жінок. В сировотці крові до призначення терапії визначали вміст малонового діальдегіду, церулоплазміну, трансферину, SH-груп і розраховували ІОС. Також було проведено багатофакторний аналіз з використанням бінарної логістическої регресії. Крім того, для визначення оптимального критерію – порогового значення ІОС, що дозволяє прогнозувати розвиток рецидивуючого ПН, розраховували індекс Юдена.

Показано, що значення ІОС в групі 1 статистично достовірно перевищували цей показник в групі 2 ($4,39 \pm 0,18$ од. проти $2,31 \pm 0,14$ од., $P < 0,001$). Крім того, значення ІОС в групі 2 статистично достовірно перевищували цей показник в контрольній групі ($2,31 \pm 0,14$ од. проти $1,04 \pm 0,04$ од., $P < 0,001$). Індивідуальний аналіз значень ІОС показав, що в групі 1 значення ІОС реєструються вище 2,5 од. у 93% хворих. В групі 2, навпаки, значення ІОС реєструються нижче 2,5 од. Отримані нами дані підтвержені результатами багатофакторного аналізу з використанням бінарної логістическої регресії. Встановлено висока якість (> 80%) отриманої регресійної моделі $\chi^2 = 74,3$; $P < 0,001$; відношення шансів = 7,5; 95% діагностическої інформативності 3,3–7,1. Також встановлено пряма помірна кореляційна зв'язок між частотою рецидивів ПН і значеннями ІОС: чим частіше відбувалися рецидиви ПН, тим вище були значення ІОС.

Таким чином, значення ІОС цілеспрямовано розраховувати в якості предиктора прогнозування рецидивуючого течення ПН з метою оптимізації програми реабілітації пацієнток і запобігання рецидивам хвороби. Якщо значення ІОС реєструються вище 2,5 од., то ймовірність прогнозування рецидивуючого течення ПН становить 93%.

ОКИСЛЮВАЛЬНА МОДИФІКАЦІЯ ПРОТЕЇНІВ ТА ВІДНОВНИЙ СТАН НІКОТИНАМІДНИХ КОЕНЗИМІВ У КРИШТАЛИКУ КРОЛІВ ЗА ДІЇ КАТАРАКТОГЕННИХ ЧИННИКІВ

КОЛОМІЙЧУК С. Г., ЛЕУС М. Ф.

*ДУ «Інститут очних захворювань і тканинної терапії
ім. В. П. Філатова АМН України», Одеса;
e-mail: filatova_biochem@mail. Ru*

Дисбаланс у про-/антиоксидантній системі й порушення біосинтетичних процесів у тканинах ока за дії різних патогенних чинників, сприяє появі посттрансляційних змін у протеїнах, а саме їх агрегації, зниженню рівня SH-груп та збільшенню кількості міжмолекулярних дисульфідних зв'язків, деградації ліпопротеїнів у мембранних структурах кори та ядрі кришталика і, як результат, порушенню його рефракційних властивостей і розвитку помутніння (катаракти). Мета роботи – вивчення взаємозв'язку між окислювальною активністю, рівнем карбонільних сполук, що відображають ступінь окисної модифікації протеїнів та відновним станом нікотинамідних коензимів у кришталику ока кролів за дії катарактогенних чинників.

Кролів породи Шиншила опромінювали світлом високої інтенсивності протягом 23 тижнів (350–1150 нм, 750 Вт), крім того тварини отримували перорально амінотриазол (АТ) – інгібітор каталази (100 мл 0,2% розчину на кг маси щоденно) та поєднання цих чинників. Контроль – інтактні тварини. Для вивчення взаємозв'язку між рівнем окислювальної активності, карбонільних похідних протеїнів

та відновним станом нікотинамідних коензимів у кришталіку очей кролів використовували ранговий коефіцієнт кореляції Спірмена.

Одержані результати свідчать, що окислювальна активність у кришталіку кролів через 23 тижні експерименту була підвищена: за дії поліхромного світла – на 36%, амінотриазолу – на 47%, при поєднанні чинників – на 58% по відношенню до контрольної групи ($P < 0,05$). За цих умов співвідношення NAD/NADH суттєво не змінювалось, тоді як відновний потенціал NADPH/NADP, дуже важливий для стабілізації тіолового статусу кришталіка, особливо при інтенсифікації вільнорадикальних процесів та пероксидного окислення ліпідів, знижувався в 1,4 раза за роздільної дії чинників та в 1,6 раза при їх поєднанні відносно контролю. В умовах світлового впливу та інгібування ензиму антирадикальної системи каталази амінотриазолом встановлено суттєве підвищення рівня карбонільних похідних протеїнів у кришталіку кролів по відношенню до інтактних тварин, причому значніші порушення цього показника виявлені у разі поєднання цих чинників, що, в свою чергу, свідчить про окислювальну модифікацію біополімерів, пов'язаних із процесами карбоксилування, тобто в умовах «карбонілового стресу» при порушенні дисбалансу в про-/антиоксидантній системі в тканинах ока. Під час вивчення взаємозв'язку між біохімічними показниками за дії катарактогенних чинників встановлено позитивний корелятивний зв'язок між рівнем карбонільних сполук у протеїнах та окислювальною активністю в кришталіку кролів, які мали негативний корелятивний зв'язок із відновним потенціалом NADPH/NADP ($P < 0,01$).

Таким чином, встановлено, що хронічна дія стрес-чинників хімічної та фізичної природи сприяє окислювальній деградації протеїнів, які відповідають за оптичні властивості кришталіка, на фоні зниження відновного стану NADPH/NADP. Отримані дані дозволяють вважати обґрунтованою спробу корекції препаратами з антиоксидантними властивостями порушень метаболічних систем, що забезпечують структурно-функціональний стан зорового аналізатора.

MECHANISMS OF β -BLOCKERS AND ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INHIBITORS EFFECTS ON NITRIC OXIDE BIOAVAILABILITY IN NORMAL AND SCLEROTIC ENDOTHELIUM

KORDA M. M.

*I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine;
e-mail: kordamm@yahoo.com*

Treatment of hypertension (HP) is a critical medical and social problem. It is well known that HP is associated with endothelial dysfunction, which is defined as the reduction of NO bioavailability. The contribution of endothelial dysfunction to atherosclerosis has been also well characterized. Hence the ability to improve NO bioavailability should be considered as important characteristic in choice of an appropriate antihypertensive and antisclerotic drugs. β -blockers and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors remain the first-line therapies for the treatment of HP. The present study was designed to investigate the effect of β -blockers (metoprolol, atenolol) and ACE inhibitors (lisinopril, ramiprilat) on the NO bioavailability and eNOS expression in normal and sclerotic (high LDL) endothelial cells.

Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were incubated for 24 hours with different concentrations of metoprolol, atenolol, lisinopril or ramiprilat, as well as with LDL and with the above mentioned preparations and LDL. The thoracic aortas were excised from Wistar-Kyoto (WKY) and spontaneously hypertensive (SHR) rats and incubated in HBSS for 2 hours with metoprolol, atenolol, lisinopril or ramiprilat. Highly sensitive porphyrinic nanosensors were used to directly measure the kinetics of calcium ionophore (CaI) stimulated NO, superoxide and peroxynitrate release in HUVECs and aortic endothelium. In addition, eNOS, expression was estimated by Western blot analysis.

Treatment of HUVECs with metoprolol increased the peak NO liberation in a dose-dependent manner. Another β -blocker atenolol did not affect the CaI stimulated NO release. Incubation of HUVECs with lisino-

pril and ramiprilat resulted in the increase of NO production. Formation of NO was dramatically reduced in HUVECs exposed to LDL. Treatment of cells, subjected to LDL, with metoprolol partially restored NO bioavailability. Both lisinopril and ramiprilat improved the functional state of endothelial cells cotreated with LDL as well. CaI not only stimulates NO release but also causes the simultaneous formation of $O_2^{\cdot-}$, which after reaction with NO produces ONOO $^-$. Only treatment of HUVEC with ramiprilat led to a significant decrease of CaI-stimulated $O_2^{\cdot-}$ and ONOO $^-$ release. Metoprolol, atenolol and lisinopril were found to be ineffective. HUVECs exposed to LDL showed a sharp increase of $O_2^{\cdot-}$ and ONOO $^-$ production. Metoprolol and ramiprilat partially diminished this prooxidant effect of lipoproteins. The eNOS expression was higher for HUVECs treated with metoprolol, lisinopril and ramiprilat as compared to control cells. Endothelial NOS protein levels in HUVECs incubated in the presence of LDL did not show differences respect to control cells. However, lipoproteins abolished the stimulating effect of metoprolol on eNOS expression. Supplementation with lisinopril and ramiprilat was found to augment the level of eNOS in HUVECs treated with LDL.

NO concentration released from the aortas of WKY was about 2 times higher than from SHR. In the same time, the CaI-stimulated peaks of superoxide and peroxynitrate release were significantly elevated in SHR. Incubation of both WKY and SHR aorta's with metoprolol resulted in the increase of NO release and decrease of $O_2^{\cdot-}$ and ONOO $^-$ production but only in aortas of hypertensive rats. The similar effect was observed in the treatment of aortas with lisinopril. In contrast, ramiprilat effectively decreased both $O_2^{\cdot-}$ and ONOO $^-$ production for both rat strains.

In conclusion, the blocker of β_1 -adrenergic receptors, metoprolol, and ACE inhibitors lisinopril and ramiprilat increase the NO bioavailability in both normal and pathological (LDL treated or SHR) endothelial cells. This effect of β -blocker and ACE inhibitors may contribute to the prevention of the endothelial dysfunction in cardiovascular disorders, e.g., hypertension and atherosclerosis.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ БИОФЛАВОНОИДОВ

ЛЕВИЦКИЙ А. П., МАКАРЕНКО О. А., ХРОМАГИНА Л. Н., КНАВА О. Э.

*ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса;
e-mail: flavan@mail.ru*

Биофлавоноиды относятся к многочисленной группе полифенольных растительных соединений, в основе строения которых лежит трицикл флавана. Эти вещества обладают широким спектром биологического действия (капилляроукрепляющим, спазмолитическим, противовоспалительным, антиаллергическим, антибактериальным, противовирусным, антиаритмическим, антиатеросклеротическим, антигипертензивным, противоязвенным, антиканцерогенным, гормоноподобным, антидиабетическим, гепатопротекторным, остеопротекторным). Такое многообразие ставит закономерный вопрос о существовании общих механизмов действия биофлавоноидов, направленных на предупреждение и/или купирование развития патологий с различными этиологическими факторами. Это обстоятельство и определило цель настоящей работы – исследование ведущих биохимических механизмов лечебно-профилактического действия биофлавоноидов при различной экспериментальной патологии.

На крысах линии Вистар моделировали токсический гепатит, кариес, пародонтит, стоматит, дисбиоз, сахарный диабет 1 и 2 типа, язву желудка. В качестве источника биофлавоноидов использовали кверцетин, рутин, гесперидин, генистеин, а также растительные экстракты из бобов сои, ягод черники, листьев винограда, содержащие биофлавоноиды. Состояние органов и тканей оценивали по биохимическим маркерам воспаления, дисбиоза и защитных систем.

В результате установлено, что в развитии практически всех моделируемых патологий существенную роль играет микробный фактор, т.е. развитие генерализованного или регионального дисбиоза, в основе которого лежит ослабление врожденного антимикробного иммунитета. Самой ранней реакци-

ей организма на чужеродный микробный фактор является активация свободнорадикального окисления и образование активных форм кислорода, которые быстро превращаются в сильные антимикробные соединения (гипохлориты, перекиси липидов, пероксинитрил и др.). Лечебно-профилактическое действие биофлавоноидов и, содержащих их, препаратов, состоит в укреплении стенки сосудов и снижении её проницаемости, что ослабляет транслокацию бактерий и их токсинов, а также в усилении антимикробной функции печени, являющейся главным барьером на пути следования микробов и их токсинов из кишечника. Важную роль играют и прямые антиоксидантные и антимикробные свойства биофлавоноидов. В совокупности антидисбиотические, антиоксидантные и антимикробные эффекты биофлавоноидов оказывают выраженное лечебно-профилактическое действие при самых разных патологических процессах. Важно также отметить, что эти соединения не оказывают побочного действия даже при длительном применении.

В результате проведенной работы обоснована роль дисбиотических факторов в механизме многих заболеваний современного человека и показана антидисбиотическая функция биофлавоноидов, что в значительной степени предопределяет их лечебно-профилактическое действие. На основании проведенных экспериментальных исследований также предложены рецептуры новых наиболее эффективных лечебно-профилактических средств, содержащих биофлавоноиды. Это таблетированные формы, порошки для перорального применения, зубные эликсиры, мукозаадгезивные гели, утвержденные Минздравом Украины.

AUTOIMMUNE COMPONENT OF ALZHEIMER DISEASE: THE ROLE OF NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTOR-SPECIFIC ANTIBODIES IN NEUROINFLAMMATION AND MEMORY IMPAIRMENTS

¹LYKHMUS O. Yu., ¹KALASHNYK O. M., ²VOITENKO L. P., ³KHOLIN V. A.,
¹KOVAL L. M., ³PESCHANA K. O., ³BACHYNSKA N. Yu., ¹SKOK M. V.

¹*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;*

²*Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;*

³*Chebotarev State Institute of Gerontology, National Academy
of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv;*

e-mail: elenalykhmus@yandex.ua

Alzheimer disease (AD) is a neurodegenerative disorder of elderly people characterized by the impairments of memory and loss of practical habits. The changes in the brain include neuroinflammation, accumulation of extracellular plaques composed of aberrantly processed β -amyloid and cholinergic deficit, the reasons of which are not completely understood. We hypothesized that the decrease of nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) density in the brain found upon AD can be caused by nAChR-specific autoantibodies. Previously it was found that antibodies raised in mice against recombinant extracellular domain (1-208) of $\alpha 7$ nAChR subunit penetrated the brain upon inflammation to decrease the level of both $\alpha 7$ and $\alpha 4\beta 2$ nAChRs and to increase that of $\alpha 3\beta 4$ nAChRs. Striatum and forebrain were identified as the primary targets for such antibodies. However, the prolonged presence of $\alpha 7(1-208)$ -specific antibodies caused similar changes in the hippocampus and cortex regions accompanied with accumulation of β -amyloid (1-40) and (1-42) processed forms and the appearance of atrophic astrocytes. Similar changes were found in mice injected with bacterial lipopolysaccharide (LPS) for 5 months. Both immunized and LPS-injected mice demonstrated worse episodic memory but did not differ from the controls in locomotor or anxiety-related tests. In the cellular model, rabbit $\alpha 7(1-208)$ -specific antibodies induced pro-inflammatory interleukin-6 production in human astrocyte-derived glioblastoma U373. Autoantibodies capable to bind $\alpha 7(1-208)$ were found in the blood of both healthy humans and AD patients; their level increased with age reaching maximum by about 20 years old. It was shown that such antibodies could be formed in response to destruction of nAChR-expressing respiratory epithelium upon

obstructive bronchitis (in humans) or transplantation of Lewis lung carcinoma cells (in mice). The blood level of $\alpha 7(1-208)$ -specific antibodies in patients with the early-onset AD was significantly higher compared to those with sporadic AD. It is concluded that $\alpha 7$ nAChR-specific autoantibodies might be the reason for a primary cholinergic deficit triggering further processes of neuroinflammation upon early-onset AD.

РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНДУКОВАНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ

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

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»;
e-mail: duduchka@ukr.net

Мета дослідження – оцінка факторів розвитку оксидативного стресу піддослідних щурів із хімічно індукованим канцерогенезом на тлі введення цитостатичних препаратів, що входять до комплексу хіміотерапії злоякісних пухлин.

Робота виконана на 70 лабораторних білих щурах з масою тіла (190 ± 5) г. Хронічну неопластичну інтоксикацію моделювали шляхом введення несиметричного 1,2-диметилгідразин гідрохлориду (ДМГ) попередньо розведеного ізотонічним розчином NaCl (7,2 мг/кг) 1 раз на тиждень впродовж 30 тижнів (Дерягина В. П., 2009). Цитостатичні препарати метотрексат та доксорубіцин вводили паралельно з введенням ДМГ впродовж останніх 8 тижнів (Зарипова І. В., 2008). Про-/антиоксидантний статус оцінювали у гомогенаті печінки за змінами концентрації ТБК-активних продуктів, гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) згідно методики (Колесова О. Е., 1984); стан ензимної ланки антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за змінами активності каталази (КТ) (Королук М. А., 1988), супероксиддисмутази (СОД) (Чевари С., 1985), глутатіонпероксидази (ГП) і глутатіонредуктази (ГР) за методикою (Круглікова Г. О., 1976). Концентрацію відновленого глутатіону (GSH) визначали за методом (Ellman G. L., 1976). Для оцінки антиоксидантного стану застосовували фактор (Ф-АОС), який відображав активність важливих ензимів і рівень вільнорадикального переокислення ліпідів (Чевари С., 1991).

В умовах індукованого канцерогенезу в організмі піддослідних тварин зростала концентрація ТБК-активних продуктів (у 2,0 рази) та ГПЛ (у 3,4 рази) у порівнянні з аналогічними контрольними показниками. За введення цитостатичних препаратів тваринам з канцерогенезом ці показники достовірно зростали у 2,5 та 3,6 рази відповідно. Показано, що за умов хімічно індукованого аденокарциноматозу товстої кишки відбувається суттєве зниження активності КТ (на 28,3%), СОД (на 31,6%), ГП (на 43,5%), ГР (на 23,5%) та концентрації GSH (на 35,7 %) у порівнянні з аналогічними показниками контрольної групи тварин. Більш вираженим було пригнічення активності КТ (на 45,3%), СОД (на 40,8%), ГП (на 51,8%), ГР (на 27,6%) та концентрації GSH (на 41,4%) у групі тварин із неопластичним ураженням на тлі застосування цитостатиків у порівнянні з аналогічними показниками у контрольній групі тварин. Базуючись на визначених показниках про-/антиоксидантної активності ми розраховували Ф-АОЗ. У групі тварин, яким вводили ДМГ, Ф-АОЗ становив ($11,67 \pm 0,29$) і був меншим на 79,6% порівняно з контролем ($57,33 \pm 2,81$). На тлі поєднаного застосування ДМГ та цитостатиків встановлено прогресуюче зменшення Ф-АОЗ – на 88,9%.

Таким чином, в умовах індукованого канцерогенезу введення цитостатичних препаратів призводить до суттєвої активізації процесів ВРО, накопичення в крові токсичних продуктів ПОЛ, і, як наслідок до вираженого ослаблення та дисбалансу ензиматичних систем антиоксидантного захисту. Математично обчислений нами Ф-АОЗ наглядно і кількісно відображає зниження здатності АОС у щурів з індукованим канцерогенезом.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ ЗА УМОВ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ХІМІОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА В-ХРОНІЧНИЙ ЛІМФОЛЕЙКОЗ

¹МАСЛАК Г. С., ¹КОСТЮК О. В., ²ПАША Н. С., ¹БРАЗАЛУК О. З.

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія», Україна;

²КЗ «Дніпропетровська міська багатопрофільна

клінічна лікарня № 4» ДОР, Україна;

e-mail: maslak_anna@mail.ru

В-хронічний лімфолейкоз (В-ХЛЛ) характеризується накопиченням В-лімфоцитів, які активно експресують специфічні антигени (CD5, CD23), антигенові рецептори (B-cell antigen receptor, B-cell maturation receptor), аднормальні вуглеводні гілки. Отже, ці клітини на своїй поверхні мають велику кількість глікокон'югатів, які визначають та модулюють їхню поведінку в процесах міжклітинного розпізнавання, адгезії, взаємодії з антигенами, різноманітними хімічними та чужерідними агентами, апоптозу тощо (Wang X., 2002). Відомим є факт впливу цитостатичних препаратів, а саме алкілюючих та антиметаболітів на синтез нуклеотидів (ГТФ, УТФ та ЦТФ), які є основою нуклеотидних цукрів – попередників при біосинтезі глікокон'югатів (Peters G. J., 1990). Тому, лікування цитостатиками може змінювати глікозилуваність мембранасоційованих форм глікокон'югатів, і як наслідок поведінку клітини. Метою нашої роботи було дослідження впливу цитостатичної терапії на експонування глікотопів на мембранах лімфоцитів хворих на В-хронічний лімфолейкоз (В-ХЛЛ) та еритремію і сублейкемічний мієлоз.

Об'єктом дослідження були лімфоцити крові хворих: на еритремію – група I ($n = 8$); сублейкемічний мієлоз – група II ($n = 8$); В-хронічний лімфолейкоз – група III ($n = 8$) у віці 58–66 років до проведення лікування. Наступний відбір крові в цих групах проводили через дві доби від початку лікуванням гідроксикарбамідом у групах I, II та сполученням флударабіну з циклофосфамідом у групі III. Контрольну групу становили гематологічно здорові волонтери ($n = 10$) у віці від 55 до 65 років. Виділення лімфоцитів із гепаринізованої крові (20–25 ОД гепарину на 1 мл крові) робили за модифікованим методом (A. Voym, 1976), який оснований на седиментації клітин у градієнті густини фікол-урографіну ($\rho = 1,077$ г/мл). Експонування глікотопів визначали методом проточної цитофлуориметрії з використанням лектинів МАА II (EU Laboratories, Switzerland), Con A та SNA, РНА-L, LCA, LABA (Лектинотест, Україна), кон'югованих з флуоресцеїнізотіоціанатом – ФІТЦ.

Кількість лімфоцитів з позитивною реакцією на лектини відрізнялась в залежності від типу захворювання, способу лікування. Так, кількість Con A- та РНА-L-позитивних лімфоцитів периферичної крові за В-хронічним лімфолейкозом була в декілька разів вище в порівнянні з контрольною групою та еритремією і сублейкемічному мієлозом. У хворих на В-хронічний лімфолейкоз показник експонування N-глікозилуваних глікотопів на плазматичній мембрані лімфоцитів був у 20 разів вище порівняно з нормою, що підтверджується висновками (Speckart S. F., 1987) при дослідженні агглютинації В-лімфоцитів лектином канавалі мечовидної. При В-ХЛЛ на лімфоцитах практично відсутні вуглеводні гілки, які несуть на своїй поверхні сіалові кислоти, як на O- так і N-вуглеводних послідовностях глікокон'югатів, що підтверджується іншими дослідниками (O'Kennedy R., 2005). Терапія сполученням флударабіну з циклофосфамідом призводить до збільшення інтенсивності зв'язування клітин із лектином SNA в 2,5 раза, що говорить про наявність $\alpha(2\rightarrow6)$ сіалюваних N-гліканів. Лікування гідроксикарбамідом хворих на еритремію і сублейкемічний мієлоз та терапія хворих на В-хронічний лімфолейкоз сполученням флударабіну з циклофосфамідом мають однаковий ефект відносно зменшення кількості Con A-позитивних лімфоцитів та зменшення інтенсивності експонування N-глікотопів, що може свідчити про універсальність дії антиметаболітів на вибрані для досліджень онкопроліферативні захворювання. Детальний аналіз глікопротеїнів, які входять до складу плазматичних мембран цих клітин, до лікування та після його проведення, допоможуть розширити уявлення про глікобіохімічні процеси в клітинах при лейкозах та розробити нові підходи до їх лікування.

РОЛЬ СТАТЕВИХ ЧИННИКІВ У РЕГУЛЯЦІЇ УТВОРЕННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В СЕРЦЕВО-СУДИННІЙ СИСТЕМІ

МЕЛЬНИК А. В., ЗАІЧКО Н. В., КОЛОШКО О. М.

*Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail: anderneting@gmail.com*

Гідроген сульфід (H_2S) є важливою біологічно активною молекулою, яка залучена до регуляції скоротливості міокарду, судинного тонуусу, функцій нирок, нейротрансмісії та ін. Утворення H_2S у серцево-судинній системі відбувається в реакції десульфурування цистеїну за участі цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ). Залишається нез'ясованою роль статі та статевих гормонів в утворенні H_2S у серцево-судинній системі щурів, що і стало метою нашого дослідження. Досліди проведені на 60 дорослих щурах обох статей лінії Вістар. Дефіцит статевих гормонів створювали шляхом кастрації (оваріектомії та тестектомії). Замісну гормонотерапію кастрованим тваринам проводили відповідно тестостероном чи естрадіолом. Досліджено вміст H_2S , активність та кінетичні параметри (K_m за цистеїном та V_{max}) ЦГЛ у пост'ядерних супернатантах гомогенатів міокарду й аорти, а також рівень статевих гормонів (тестостерону та 17β -естрадіолу) в плазмі крові щурів.

Встановлено, що у самок щурів активність ЦГЛ та вміст H_2S у міокарді й аорті на 19–35% більша ($P < 0,05$), ніж у самців. Кастрація тварин обох статей спричинила різноспрямовані зміни продукції H_2S у серцево-судинній системі: оваріектомія самок супроводжувалась достовірним зменшенням активності ЦГЛ та вмісту H_2S у серці й аорті (на 19–28%, $P < 0,05$), тоді як кастрація самців зумовлювала протилежні зміни. Замісна гормонотерапія естрадіолом та тестостероном відновлювала характер статевих відмінностей продукції H_2S у серці та аорті: активність ЦГЛ і вміст H_2S у серцево-судинній системі достовірно не відрізнялись ($P > 0,05$) від інтактних щурів. Кореляційний аналіз показав, що між рівнем H_2S , активністю ЦГЛ у міокарді й аорті та вмістом естрадіолу в сироватці крові виникали прямі зв'язки ($r = 0,45$ – $0,58$, $P < 0,05$), тоді як з рівнем тестостерону ці зв'язки були оберненими ($r = -0,4$ – $0,51$, $P < 0,05$).

Різна насиченість організму щурів статевими гормонами впливає на кінетичні параметри ЦГЛ у міокарді та аорті. Гонадектомія самок спричиняла достовірне зростання K_m ЦГЛ (на 24–26%, $P < 0,05$) та зменшення V_{max} (на 16–17%, $P < 0,05$) реакції за участі ЦГЛ, тоді як кастрація самців супроводжувалась протилежними змінами вказаних параметрів у серці та аорті. Проведення замісної терапії статевими гормонами наближало показники кінетичних параметрів ЦГЛ до рівня щурів без змін гормонального статусу.

Таким чином статеві гормони регулюють утворення H_2S у серцево-судинній системі, впливаючи на активність та кінетичні параметри основного H_2S -синтезуючого ензиму – ЦГЛ.

МОДУЛЯЦІЯ РЕДОКС-ПОТЕНЦІАЛА В МЕХАНІЗМАХ ДЕЙСТВИЯ ДОКСОРУБИЦИНА І ЛАНДОМИЦИНА

¹МОЙСЄЄНОК А. Г., ¹ПЕХОВСКАЯ Т. А., ¹ОМЕЛЬЯНЧИК С. Н.,
¹КОВАЛЕНЧИК І. Л., ²ЧУМАК В. В., ²ЛЕГКАЯ Л. В.,
²СКОРОХИД Н. Р., ²ПАНЧУК Р. Р., ²СТОЙКА Р. С.

¹Інститут біохімії біологічески активних
соединений НАН Беларуси, Гродно;
e-mail: andrey.moiseenok@tut.by;

²Інститут біології клетки НАН України, Львов

В развитие концепции дисбаланса окислительно-восстановительных процессов при бласттрансформации клеток и развитии системного воспаления, а также в возникновении лекарственной устой-

чивости при назначении противоопухолевых средств нами реализуется билатерный проект «Использование редокс-модулирующих соединений для увеличения избирательности действия новых противоопухолевых препаратов». Недавнее сообщение лауреата Нобелевской премии Дж. Уотсона (Watson J. D. The Lancet, 2014, v. 383, p. 841) поднимает вопросы клеточного редокс-баланса и редокс-сигналирования до уровня этно-патогенетической значимости при развитии сахарного диабета 2 типа, возникновении инсулинорезистентности, действии метформина и экстраполирует этот механизм на сердечно-сосудистую и онкологическую патологию.

В эксперименте на белых крысах линии Wistar исследовано воздействие противоопухолевых препаратов доксорубицина (ДР) и ландомицина (ЛН) на показатели системы глутатиона и коэнзима А на фоне применения модуляторов этих систем с целью выявления их потенциальной способности изменять редоксзависимые показатели метаболизма и оценки возможности их сочетанного назначения. Установлено, что однократное введение ДР или ЛМ в дозе 5 мг/кг массы тела приводит к выраженным проявлениям окислительного стресса (ОС), в т.ч. сопровождающимся ростом активности изоэнзимов глутатионпероксидаз. Проявления ОС, инициированного ЛМ нивелировались или ослаблялись при введении редокс-модуляторов, в особенности при их сочетанном назначении. Реакция клеточного глутатиона-SH оказалась разнонаправленной в эритроцитах и ткани печени, при этом выявлен эффект значительного сдвига редокс-потенциала в восстановленную сторону. На фоне применения ДР падение уровня глутатиона оказалось выраженным как для сочетанного введения, так и для редокс-модуляторов в отдельности, равно как изменение редокс-потенциала в восстановленную сторону. Индукция глутатионпероксидазных активностей была предпочтительной при назначении ЛМ. При этом, в соответствии с концепцией Уотсона, выявлена реакция селенопротеина (куменметаболизирующая глутатионпероксидаза).

Фракции кислоторастворимого коэнзима А (КоА), а также ее компоненты – свободный КоА и короткоцепочечный ацил-КоА в паренхиматозных органах не претерпели изменений при назначении препаратов и их композиций в связи с относительно низкими дозами использованных соединений и непродолжительностью их назначения. Тем не менее предшественник КоА – Д-пантетин проявил высокую активность на клеточной культуре аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7, уменьшая продукцию супероксид-радикалов доксорубицином.

Полученные результаты указывают на целесообразность сочетанного применения предшественников биосинтеза селенопротеинов и коэнзима А для повышения эффективности действия противоопухолевых средств.

ВПЛИВ МУЛЬТИПРОБІОТИКА НА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В ОРГАНАХ ПОРОЖНИНИ РОТА ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ГІПОАЦИДИТЕТУ

¹НЕПОРАДА К. С., ¹МАНЬКО А. М., ¹СУХОМЛИН А. А.,
¹МИКИТЕНКО А. О., ²БЕРЕГОВА Т. В., ³ЯНКОВСЬКИЙ Д. С.

¹ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава;

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

³НПО «О.Д. Пролісок», Київ, Україна;

e-mail: neporada_69@mail.ru

Для лікування кислотозалежних захворювань шлунково-кишкового тракту широко застосовуються антацидні засоби, серед яких провідну роль відіграють інгібітори протонної помпи. Довготривале застосування інгібіторів протонної помпи має негативні наслідки, зокрема, розвиток гіпергастринемії та дисбіозу біотопів травної системи. Мультипробіотики широко застосовуються для лікування захворювань, пов'язаних із мікроекологічними порушеннями, в тому числі при гіпоацидних станах, стимулюючи механізми імунобіологічної реактивності та відновлюючи приєпітеліальну біоплівку. Метою нашого дослідження було обґрунтування експериментальної ефективності

мультипробіотика «Симбітер ацидофільний концентрований» для корекції патологічних змін у тканинах порожнини рота щурів в умовах тривалого гіпоацидитету.

Експерименти виконані з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією на 41 щурі-самці, з масою тіла 180–250 г. Дослідним тваринам протягом 28 днів внутрішньоочеревинно вводили омепразол (Sigma, США) дозою 14 мг/кг, який був розчинений у 0,2 мл води для ін'єкцій окремо та в поєднанні із мультипробіотиком «Симбітер» (О.Д. Пролісок, Україна), який вводили перорально дозою 0,14 мл/кг у 0,5 мл води для ін'єкцій. В органах порожнини рота (м'які тканини пародонта, піднижньощелепні слинні залози) визначали активність загальної NO-синтази, вміст нітрит-аніонів, молекул середньої маси (MCM) та окисномодифікованих протеїнів (ОМП).

Роль NO-ергічної системи в патогенезі патологічних змін залежить від фізіологічних, регуляторних та цитотоксичних властивостей і значною мірою обумовлено концентрацією NO, а також редокс-статусом клітин, в яких синтезується та реалізує свої ефекти оксид азоту. Нами встановлено в умовах тривалого гіпоацидного стану, що загальна нітрооксидазна активність м'яких тканин пародонта та піднижньощелепних слинних залоз вірогідно зростала порівняно з контрольними тваринами, що може бути обумовлено активацією індукційної ланки синтезу оксиду азоту. За цих умов в досліджуваних тканинах порожнини рота вірогідно зростає вміст нітрит-аніонів, які є стабільними кінцевими продуктами метаболізму оксиду азоту. Отже, у разі моделювання дисбіозу біотопу шлунка виникають патологічні зміни в порожнини рота щурів, про що свідчить активація NO-ергічної системи. За тривалої гіпохлоргідрії у тварин розвивається оксидативний стрес та синдром ендогенної інтоксикації, про що свідчить вірогідне зростання вмісту MCM та ОМП у м'яких тканинах пародонта та слинних залоз порівняно з контролем. Аналізуючи NO-ергічну систему дослідних тварин під час використання мультипробіотика отримали вірогідне зниження загальної NO-синтази та вмісту нітрит-аніону в досліджуваних тканинах у порівнянні з тваринами, з дисбіозом без корекції. Встановлено пригнічення розвитку оксидативного стресу та ендотоксикозу в тканинах пародонта та слинних залоз за введення «Симбітеру» на тлі тривалого гіпоацидитету.

Експериментальна ефективність мультипробіотикокорекції за гіпоацидності доведена на підставі нормалізації NO-ергічної системи, пригнічення процесів вільно-радикального окислення та розвитку ендотоксемії в органах ротової порожнини.

MOLECULAR MECHANISMS UNDERLYING CIRCUMVENTION OF CANCER DRUG RESISTANCE BY ANGUCYCLINE ANTIBIOTICS OF LANDOMYCIN FAMILY

¹PANCHUK R. R., ¹LEHKA L. V., ²ROHR J., ³HEFFETER P.,
⁴BERGER W., ¹STOIK A R.

¹Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;
²University of Kentucky, College of Pharmacy, Lexington, USA;
³Institute of Cancer Research, Vienna Medical University, Vienna, Austria;
e-mail: rpanchuk@ukr.net

Rapid development of tumor drug resistance is one of the main reasons of low efficiency of modern cancer chemotherapy. Landomycins are the novel group of angucycline antibiotics possessing strong antineoplastic potential and the unique ability to overcome multidrug resistance of tumor cells to anticancer drugs. However, molecular mechanisms of cytotoxic action of these compounds still remain poorly understood.

The main aim of current project was to study in-depth molecular mechanisms of anticancer activity of 7 members of landomycin (L) family (LA, 11-deoxyLA, LB, 11-deoxyLB, LE, LD, 11-deoxyLD). We used panel of 10 carcinoma and leukemia cell lines possessing different mechanisms of multidrug resistance. The results of MTT assay demonstrated that sensitivity to landomycins in the parental tumor cell lines and their

drug resistant sub-lines with over-expression of P-glycoprotein and bcrp did not differ significantly, while cell lines over-expressing MRP-1, demonstrated 2-fold elevation in their resistance to landomycins. In contrast, resistance to doxorubicin (used as a positive control) increased 80-100 folds, thus, indicating high efficiency of landomycins in killing drug-resistant cells.

It was revealed that anticancer activity of landomycins tightly depends on presence or absence of specific groups in their molecule, which also has strong influence on hydrogen peroxide production in mitochondria of target cells under their action. Elimination of every sugar residue in landomycins' oligosaccharide chain decreases ROS production under action of these drugs by 30%, and proportionally decreases their anticancer activity. The same phenomenon was also observed when OH-group at C11 atom of aglycone of landomycins was removed.

ROS production under landomycins action was also tightly involved in overcoming of MDR in tumor cells by these drugs. It was revealed that in HL-60/adr (MRP-1+) cells, which were found to be 2-fold resistant to landomycins, ROS level increased 13-fold under the action of these drugs, and slowly decreased up to 24 h after drug treatment, in contrary to parental wild-type cells, where in HL-60 wild-type cells increased only 5-fold and sharply decreased already at 3 h of drug addition to cell culture. On contrary, HL-60/vinc cells (P-gp+), which had shown weak (30%) resistance increase to landomycins, also demonstrated no changes in ROS production, however, ROS level decreased more slower (up to 6 h), while compared to parental wild-type HL-60.

For further studies of molecular mechanisms of anticancer action of landomycins towards drug-resistant cells, Western-blot analysis on panel of 30 proteins, involved in cell cycle regulation and apoptosis, was addressed. It was revealed, that early activation of effector caspase-7 upstream of initiator caspases-8,-9 is the most unique event, which significantly differentiates landomycins from the other anticancer drugs. Moreover, number of sugar residues in saccharide chain of landomycins, despite their impact on intensity of ROS production and overall anticancer activity, also correlates with the speed of apoptosis induction by these drugs. In particular, LA (6 sugars) leads to much earlier caspase-7 activation (1 h) and DNA fragmentation (6 h) compared to LE (3 sugars), where its observed only at 3 h and 12 h, correspondingly. In vivo studies of landomycin A have revealed its strong therapeutic effect on model of murine NK/Ly lymphoma, leading to complete tumor remission in experimental animals.

In conclusion, early generation of hydrogen peroxide and subsequent activation of caspase-7 seem to be crucial events involved in apoptosis induction and cancer drug resistance circumvention by landomycins in tumor cells.

ПРЕПАРАТ МЕТОВИТАН ПРЕДУПРЕЖДАЕТ НАРУШЕНИЯ В ОБМЕНЕ ТИАМИНА ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ

*ПАРХОМЕНКО Ю. М., ДОНЧЕНКО Г. В., ЧЕХОВСКАЯ Л. И.,
СТЕПАНЕНКО С. П., ПРОТАСОВА З. С.*

*Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;
e-mail: yurpark@biochem.kiev.ua*

Многочисленные наблюдения свидетельствуют, что негативные физико-химические факторы внешней среды могут существенно влиять на обмен витаминов в живых клетках. В частности, тиамин (витамин В₁) является одним из наиболее чувствительных среди витаминов к действию ионизирующего излучения, что обусловлено особенностями строения его молекулы. Впервые накопление окисленной формы биологически активного производного тиамин – тиаминдифосфата (TDP) – при критическом снижении содержания его активной формы в крови людей, было отмечено украинскими учеными при обследовании людей, пострадавших в аварии на ЧАЭС. Цель данной работы – исследовать закономерности образования окисленных форм тиамин и тиаминдифосфата в эксперимен-

тальных условиях, моделирующих действие неблагоприятных экзогенных и эндогенных факторов на организм, и поиск способа предупреждения или коррекции наблюдаемых изменений.

Эксперименты были проведены в условиях *in vitro* и *in vivo*. В опытах *in vitro* на препаратах крови проверялось предположение, что одним из эндогенных факторов, ответственных за накопление дисульфидных производных витамина В₁ может быть чрезмерное повышение уровня активных форм кислорода (АФК). Действительно, полученные результаты свидетельствуют о наличии прямой корреляции между содержанием дисульфида TDP (д-TDP) и уровнем АФК. Показано также, что тиамин (в меньшей мере – TDP) предупреждает повышение уровня АФК под воздействием перекиси водорода, что может свидетельствовать о прямом взаимодействии тиамина с этим соединением. В опытах *in vivo* были использованы животные модели ионизирующего облучения, хронического алкоголизма и стрептозотоцинового диабета. Ионизирующее облучение воспроизводилось с помощью рентген-терапевтической установки РУМ-17. В крови животных определяли содержание д-TDP и такие общие показатели окислительно-восстановительного состояния метаболических процессов как уровень свободных SH-групп и уровень АФК. Полученные данные свидетельствуют, что количество образовавшегося д-TDP в крови животных коррелирует с уровнем АФК, что особенно выражено при действии на организм ионизирующего излучения. Показано, что чрезмерное накопление (сверх 15%) д-TDP в крови крыс является характерным признаком действия на организм ионизирующего облучения, такого повышения не наблюдается при других патологиях. Введение крысам за сутки до облучения препарата Метовитан частично предупреждает негативные изменения в метаболизме, которые ведут к необратимому окислению TDP в крови. Композиция биологически активных веществ, составляющих основу препарата Метовитан, была разработана на основе многолетних исследований в области молекулярной витаминологии. Композиция подобрана по принципу синергического действия ряда биологически активных соединений (витамины В₁, В₃, Е, метионин, соль цинка) на лимитирующие звенья клеточного метаболизма.

Направленная активация препаратом процессов транссульфирования и трансметилирования способствует повышению синтеза глутатиона, который является важным компонентом биохимической системы антиоксидантной защиты организма. Благодаря этому препарат может быть использован для профилактики и коррекции нарушений в клеточном метаболизме при исследованных патологиях.

ПОДАВЛЕНИЕ РАЗВИТИЯ ЛУЧЕВОГО ОЖОГА КОЖИ И ФОРМИРОВАНИЯ ЛУЧЕВОЙ ЯЗВЫ ОБЪЁМНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ АУТОФИБРОБЛАСТОВ

ПЕРСКИЙ Е. Э., АЛТУХОВА Л. В., КОТ Ю. Г., НИКИТИНА Н. А.

*Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: kot_jurij@inbox.ru*

На морских свинках-самцах массой 350–450 г изучена возможность подавления развития локального рентгеновского ожога 3-й степени и формирования лучевой язвы объёмной трансплантацией аутофибробластов. Лучевой ожог кожи бедра вызывали рентгеновским Си-излучением мощностью 4,25 Гр/мин в течение 14,1 мин. За 32 сут до облучения у животных брали биоптаты кожи бедра, получали из них фибробласты и наращивали необходимую клеточную массу, которую хранили в жидком азоте в среде с 70% ДМЕМ, 20% фетальной сыворотки и 10% ДМСО. Для ауто трансплантации использовали фибробласты 4-го пассажа. Через 1 час после облучения, а затем каждые 24 часа в течение 21 суток экспериментальным животным по периметру зоны облучения под углом 45° к её центру на глубину 1 мм делали 6 подкожных инъекций суспензии аутофибробластов. В каждой инъекции объёмом 100 мкл было $(200-210) \times 10^3$ аутофибробластов с содержанием живых клеток 80–85%.

Показано, что на 22 сутки площади ожога и лучевой язвы у облучённых леченных животных по сравнению с облучёнными нелечеными составляют 75 и 4%. На 22 сутки у леченых животных прак-

тически нормалізуються запалительні процеси, о чім свідечує приближення концентрацій про- (IL-1 β і IL-2) і протизапалительних (IL-4 і IL-10) інтерлейкінів к значенням, характерним для контрольних необлучених тварин. Состояние соединительной ткани в зоне ожога также существенно нормализується. По сравнению с контролем содержание живых соединительнотканых клеток у облученных леченых тварин в области ожога составляет 67%, а у облученных нелеченых лишь 17%. По сравнению с контролем общее содержание коллагена в зоне ожога у облученных нелеченых и леченых тварин составляет 57 и 74%, а общее содержание гликозаминогликанов – 50 и 130% соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что постоянное введение в зону ожога аутофибробластов, начатое сразу непосредственно после лучевого поражения, приводит к снижению разрушения и деградации соединительной ткани, увеличению количества жизнеспособных клеток и резкому усилению формирования матрикса в ней. Это указывает на реальную возможность подавлять развитие лучевых ожогов кожи объемной аутотрансплантацией фибробластов.

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА ПОКАЗНИКИ ГЕМОСТАЗУ ЗА УМОВ АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

ПОСОХОВА К. А., ЯРЕМЧУК О. З., КУЛИЦЬКА М. І.

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського», Україна;
e-mail: yaremchukolya@rambler.ru*

Антифосфоліпідний синдром (АФС) – аутоімунне захворювання, що характеризується появою в крові антифосфоліпідних антитіл, які зв'язуються з ендотелієм судин та факторами згортання сприяють тромбоутворенню, спричинюють посилення синтезу тромбоксану, підвищення концентрації цитозольного кальцію, що веде до збільшення агрегації тромбоцитів, зв'язуються з мембраною активованих тромбоцитів, що пришвидшує руйнування останніх. Тромбоцитопенія зустрічається у 28% випадків первинного АФС і у 22% випадків вторинного АФС. Однією з причин, яка призводить до переривання вагітності на ранніх її термінах та до передчасних пологів є порушення системи гемокоагуляції з наступним тромбуванням судин плаценти та порушенням кровопостачання плода (Дубоссарська З. М., 2007, Kristi L. Allen, et al., 2011; Кастрюкіна І. С., 2011). Мета дослідження – встановити вплив L-аргініну на показники гемостазу та рівень тромбоцитів за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому.

АФС моделювали на мишах лінії Balb/c із використанням кардіоліпіну (Sigma, США), який вводили внутрішньом'язово, чотири рази (30 мкг на 1 ін'єкцію, проміжки між ін'єкціями становили 14 діб) (Прокопюк В. Ю., 2011). Для підвищення ефективності імунної відповіді кардіоліпін емульгували в 75 мкл повного ад'юванту Фрейнда (перша ін'єкція), наступні ін'єкції проводили з неповним ад'ювантом. АФС формувався через 2 тижні після останньої ін'єкції кардіоліпіну. Піддослідних тварин розділили на 6 груп: 1, 2 – інтактні; 3, 4 – миші з АФС; 5, 6 – тварини з АФС, яким вводили L-аргінін (25 мг/кг, в/о). Через 10 діб з моменту підтвердження АФС тварин 1-, 3- та 5-ї груп виводили з експерименту, водночас проводили злучку самок 2-, 4-та 6-ї груп із самцями та виводили з експерименту на 18-й день вагітності.

Встановлено зниження кількості тромбоцитів на 12% у групі тварин із АФС порівняно з інтактними. На 18-й день вагітності у мишей з АФС показано подальше зниження кількості тромбоцитів на 27%, порівняно з аналогічними показниками групи вагітних тварин без АФС. Встановлено, що у вагітних мишей з АФС вкорочується тромбопластиновий час на 46%, порівняно з групою вагітних тварин без АФС, що свідчить про підвищену здатність до тромбоутворення. У мишей з АФС спостерігалось зниження протромбінового часу на 14% та підвищення протромбінового індексу

на 10% порівняно з інтактними тваринами. У сироватці крові тварин з АФС встановлено зниження концентрації кінцевих метаболітів оксиду азоту (NO_2^- , NO_3^-). Отримані результати узгоджуються з даними літератури про важливу роль у патогенезі А.

Отже, встановлено схильність до гіперкоагуляції та ризик тромбоемболії у самок із антифосфоліпідним синдромом, що є одним із провідних патогенетичних моментів невиношування вагітності при цій патології. Попередник синтезу оксиду азоту L-аргінін сприяє відновленню показників гемокоагуляції та нормалізації кількості тромбоцитів за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому.

МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕННЯ ЕПІТЕЛІАЛЬНОГО БАР'ЄРУ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОЇ ДІЇ АНТИБІОТИКА ЦЕФТРИАКСОНУ

ПУТНИКОВ А., ДОВБИНЧУК Т., ГОЛОТА Ю.,
ДРАНИЦІНА А., ВАРЕНЮК І., РОСЛОВА Н.,
ГАЛЕНОВА Т., ТОЛСТАНОВА Г.

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

За результатами епідеміологічних досліджень, тривала антибіотикотерапія вірогідно підвищує ризик розвитку запальних захворювань кишечника (ЗЗК). Механізми, що лежать в основі даного феномену не встановлені. З огляду на те, що нормальна мікрофлора кишечника відіграє визначну роль у формуванні та підтриманні гомеостазу системи кишечного бар'єра, порушення якого є критичним компонентом у патогенезі ЗЗК, ми висунули гіпотезу, що підвищення ризику розвитку ЗЗК, за умов тривалої терапії антибіотиками широкого спектру дії, пов'язано з порушення у системі кишечного бар'єра. Перевірка даної гіпотези була метою роботи.

Дослідження проведені на щурах-самцях лінії Вістар (180–230 г). Цефтріаксон – антибіотик широкого спектру дії (50 мг/кг, в.м.; ВАТ «Київмедпрепарат», Україна) вводили щоденно впродовж 5 чи 14 днів. Контрольна група щурів отримувала ін'єкцію фізіологічного розчину. Аутопсію проводили на перший день після відміни антибіотика. У слизовій оболонці товстої кишки щурів визначали рівень експресії генів MUC-2, ZO-1, Ocln методом ПЛР зі зворотною транскрипцією та рівень інтерлейкінів (ІЛ)-10, -4, -1 β – методом ІФА. Ступінь дегрануляції тучних клітин та стан келихоподібних клітин – цитохімічним методом на парафінових зрізах товстої кишки, використовуючи толуїдиновий синій чи альціановий синій відповідно. Рівень секреції слизу – PAS забарвленням на PVDF мембрані.

Введення цефтріаксону (протягом п'яти діб) не виявило значних змін у експресії протеїнів щільних контактів ZO-1, Ocln, але зумовило зниження рівня секретованого слизу у 3,9 разів ($P < 0,05$), і дегрануляцію тучних клітин у стінці товстої кишки щурів. Рівень ІЛ-10, -4, -1 β вірогідно не змінювався. Подовження терміну терапії цефтріаксоном до 14 днів, зумовлювало вірогідне зрушення гомеостатичних показників кишечного бар'єру. Спостерігалось підвищення експресії ZO-1 в 3,6 раза, Ocln в 2,5 раза ($P < 0,001$). Зростав рівень секретованого слизу в 25,3 раза ($P < 0,05$), спостерігалась гіперплазія та гіпертрофія келихоподібних клітин та підвищення в 1,3 раза ($P < 0,05$) експресії гену MUC-2. Одночасно відзначалась дегрануляція тучних клітин та в 1,5 раза ($P < 0,05$) зниження рівня основних антизапальних цитокінів ІЛ-10 та ІЛ-4, рівень ІЛ-1 β не змінювався.

Тривале введення цефтріаксону призводить до зрушення гомеостатичних показників кишечного бар'єра (секреція слизу, експресія протеїнів щільних контактів), що зумовлює розвиток прозапальних змін.

EFFECT OF D-GLUCURONYL C5-EPIMERASE EXPRESSION IN PROSTATE CANCER CELL LINES

ROSENBERG E. E., GERASHCHENKO G. V., KASHUBA V. I.

*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: y.e.rozenberg@imbg.org.ua*

Nowadays, a lot of attention is given to searching for biomarkers of prostate cancer. There are some needs such as more specific diagnostic biomarkers instead PSA; prognostic biomarkers for discrimination between dormant and aggressive prostate tumors. D-glucuronyl C5-epimerase (GLCE) is one of the key enzymes in heparin-sulfate biosynthesis. It is a potential tumor suppressor in breast and lung cancers. Furthermore, in prostate tumors a high expression is associated with advanced disease and might serve as a potential biomarker of aggressive prostate cancer. There is a need for investigation of possible functional role of *GLCE* in prostate cancer more thoroughly.

Three prostate cancer cell lines with different morphological characteristics (LNCaP, DU145, PC3) compared to normal prostate epithelial (PNT2) cell line were investigated. LNCaP and PC3 cell lines were transfected with epi-pCEP4 encoding plasmid for ectopic expression of *GLCE* gene. Multiplex RT-PCR was performed to monitor *GLCE* expression in control (PNT2, LNCaP, DU145 and PC3) and transfected (GLCE-LNCaP, GLCE-PC3) cell lines. Immunostaining was used to monitor the *GLCE* protein expression. Cancer PathFinder RT2 Profiler PCR array (84 genes) was used for investigation of changes in gene expression in transfected cell lines compared to control (LNCaP, PC3).

GLCE expression in native LNCaP and PC3 cell lines were significantly lower compared to nominal PNT2 cell line. As was expected, a relative expression levels of *GLCE* in transfected cell lines (GLCE-LNCaP and GLCE-PC3) were higher, compared with the control (LNCaP and PC3) cell lines. *GLCE* expression was similar to such in PNT2 cell line. Ectopic *GLCE* expression in LNCaP and PC3 cell lines has changed expression of at least 18 genes. These genes are involved in a control of angiogenesis (*ANGPT1*, *SERPINE1*, *IGF1*, *PDGFB*, *TNF*, *IL8*, et al.) and also invasion/metastasis pathways (*MMP1*, *MMP2*, *MMP9*, *PLAU*, *FOS*, *ERBB2*, et al.). Observed changes in gene expression have both common (up-regulation of positive regulators of angiogenesis *ANGPT1*, *IGF1* and down-regulation of negative regulator *SERPINE1*) and differences (up-regulation of angiogenesis activators *TNF*, *IL8* in PC3 cell line, but their down-regulation in LNCaP) in LNCaP and PC3 cell lines.

Ectopic expression of *GLCE* in prostate cancer cell lines resulted in altered expression of genes that are involved in control of angiogenesis and invasion/metastasis. Obtained results may demonstrate pro-oncogenic affect in prostate cancer cells in a cell type-specific manner.

ВПЛИВ АГМАТИНУ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ У ЩУРІВ

СИБІРНА Н. О., БРОДЯК І. В., ФЕРЕНЦ І. В., БІЛА І. І.

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: sybirna_natalia@yahoo.com*

Порушення функціонального стану й індукція апоптотичних змін у лейкоцитах периферичної крові за умов цукрового діабету 1 типу супроводжується зміною гліканового профілю плазматичної мембрани цих клітин крові. Термінальну позицію у структурі олігосахаридних ланцюгів поверхневих глікокон'югатів переважно займають сіалові кислоти. Як компонент рецепторів сіалові кислоти регулюють молекулярно-клітинні взаємодії, трансмембранне передавання сигналу, трансдукцію клітинних сигналів і транспортування молекул. Очевидним є факт, що сіалові кислоти задіяні в

процесі ампліфікації клітинних сигналів. Модифікація гліканового профілю клітин крові призводить до порушень у сприйнятті сигналів із мікрооточення і модифікації міжклітинних взаємодій. Метою роботи було дослідити вплив агматину на структурні та кількісні зміни вуглеводних детермінант глікокон'югатів мембран лейкоцитів у нормі та за експериментального цукрового діабету (ЕЦД).

Для досягнення поставленої мети визначали загальний вміст сіалових кислот у складі поверхневих глікокон'югатів, використовуючи сіалоспецифічні лектини; досліджували тип глікозидного зв'язку ($\alpha 2,3$ чи $\alpha 2,6$), яким термінальні сіалові кислоти приєднані до субтермінальних моноцукрів та інтенсивність процесів десіалювання (за рівнем експонування субтермінальних залишків галактози, визначення яких здійснювали, використовуючи лектин насіння рицини); визначали зміну кількості N- та O-зв'язаних гліканів на поверхні лейкоцитів; аналізували рівень полімеризації актину за умов 30- с, 1- та 3-ої хв преактивації клітин з сіалоспецифічним лектином зародків пшениці (WGA).

Встановлено, що розвиток ЕЦД супроводжується зменшенням вмісту сіалових кислот у складі олігосахаридних ланцюгів глікокон'югатів мембран лейкоцитів. Десіалювання зазнають залишки цукрів, які приєднані як $\alpha 2,3$, так і $\alpha 2,6$ -глікозидним зв'язком до субтермінальних моносахаридів у структурі гліканів. Проведення лектинензиматичного аналізу дало змогу виявити у лейкоцитах тварин із ЕЦД зростання вмісту у складі мембранних глікокон'югатів термінально експонованої галактози. Оскільки кількість N-зв'язаних гліканів на поверхні лейкоцитів при цьому не змінювалася, а вміст O-гліканів навіть незначно зростає, тому зменшення вмісту сіалових кислот у глікокаліксі лейкоцитів за ЕЦД можна пояснити посиленням десіалюванням мембранних компонентів. Кількість полімеризованого актину в лейкоцитах крові за ЕЦД була достовірно вищою, тоді як за умов преінкубації клітин із сіалоспецифічним лектином WGA спостерігали зниження цього показника порівняно з контрольною групою тварин. Отже, зміни структурно-функціонального стану рецепторного апарату лейкоцитів в умовах діабету послаблюють трансдукцію WGA-збуджуючих сигнальних шляхів, які через активність ензиму фосфатидилінозитол-3'-кінази (як показано в наших попередніх дослідженнях) впливають на рівень полімеризації актину. Клітинні протеїни, які є мішенями для фосфатидилінозитол-3'-кінази, беруть участь у формуванні стресових фібрил, утворенні ламелоподій і філоподій, тобто змінюють морфологічний стан лейкоцита і його руху.

У разі введення агматину тварин з ЕЦД спостерігали зростання вмісту сіалових кислот у глікокаліксі лейкоцитів, зміна цього показника забезпечувалася збільшенням кількості саме $\alpha 2,3$ -зв'язаних сіалових кислот. Кількість залишків галактози у термінальному положенні олігосахаридних ланцюгів гліканів лейкоцитів у цій групі тварин знижувалася, ступінь N- та O-глікозилування не зазнавав змін. Отримані результати можуть свідчити про відновлення рівноваги між процесами сіалювання-десіалювання в лейкоцитах тварин із ЕЦД на фоні введення агматину. Ймовірно, нормалізація рівня глюкози у тварин із ЕЦД у відповідь на введення агматину є чинником, який опосередковує виявлені зміни гліканового профілю мембран лейкоцитів. У тварин із ЕЦД за дії агматину в лейкоцитах, преінкубованих із лектином WGA, спостерігали яскраво виражене зростання рівня полімеризації актину, що вказує на те, що у передачу сигналу у лейкоцити задіяні рецептори, які у термінальній позиції олігосахаридних ланцюгів поверхневих глікокон'югатів містять сіалові кислоти. Тому зміна позиції приєднання або кількості цього вуглеводу має вирішальне значення в інтенсивності проведення стимулювального сигналу.

ЕФЕКТ β -АМІЛОЇДНОГО ПЕПТИДУ ЛЮДИНИ У СКЛАДІ ЛІПОСОМ *IN VIVO* І *IN VITRO* НА ЦИТОКІНОВИЙ СТАТУС ЩУРІВ ТА РІВЕНЬ ЕНДОГЕННОГО β -АМІЛОЇДНОГО ПЕПТИДУ

СОКОЛІК В. В.

ДУ «Інститут неврології, психіатрії і наркології НАМН України», Харків;
e-mail: Sokolik67@rambler.ru

β -Амілоїдний пептид (β A40) вважають чинником амілоїдозу у патогенезі деменцій різного генезу. Агрегати цього пептиду у складі амілоїдних бляшок спостерігають при хворобі Дауна, Альцгеймера, Паркінсона або у людей похилого віку. Припускають, що за фізіологічних умов β A40 є частиною вродженого імунітету ЦНС. Проте, локальний надлишок β -амілоїдного пептиду провокує нейрозапалення, в свою чергу, відіграє суттєву роль у перебігу і хронізації амілоїдогенезу. Мета роботи полягала в з'ясуванні впливу неагрегованого β -амілоїдного пептиду людини довжиною 40 амінокислотних залишків (β A40_Human) у складі фосфоліпід-холестеринових ліпосом на цитокіновий статус щурів і рівень відповідного пептиду щурів (β A40_Rat) *in vivo* та *in vitro*.

β A40_Human (15 нМ) у складі ліпосом вводили щурам під кетаміновим наркозом до лівої лобно-фронтальної зони мозку або додавали до суспензії мононуклеарів ($66 \cdot 10^9$ клітин/л) щурів в об'ємі 10 мкл. Рівні окремих цитокінів (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-10) і β A40_Rat вимірювали у гомогенатах лобно-фронтальної кори, гіпокампу мозку і сироватці крові щурів на 7 та 30 добу експерименту *in vivo* та на 2 і 24 годину інкубації мононуклеарів при 37 °C *in vitro* імуноензиматичним методом відповідними наборами реагентів (Rat ELISA kit Invitrogen BCM Diagnostics, США). Контролем слугували інтактні тварини або інкубовані мононуклеари щурів без β A40_Human. Статистичний аналіз отриманих даних виконували у програмі Statistica 6.0. Критичним рівнем значущості відмінностей за *t*-критерієм Стьюдента вважали 0,05. Ліпосоми, як транспортери β A40_Human, запобігали агрегації цього пептиду і уможливлювали вивчення його нетоксичних ефектів. Ліпідний склад ліпосом відповідав пропорції холестерину і фосфоліпідів у ліпопротеїнах високої щільності (ЛВЩ), а саме 1 : 2.

Інтрацеребральне введення екзогенного β A40_Human у складі ліпосом обумовило різноспрямовані вірогідні зміни рівней окремих цитокінів у щурів. А саме: у лобно-фронтальній корі зафіксовано збільшення IL-1 β , TNF- α і IL-10, у гіпокампі – збільшення TNF- α і зменшення IL-6, у сироватці крові – збільшення TNF- α і зменшення IL-1 β , IL-6, IL-10 на 7 добу експерименту. На 30 добу дослідження у лобно-фронтальній корі головного мозку тварин нормалізувався рівень усіх досліджуваних цитокінів, у сироватці крові – тільки TNF- α перебільшував показники інтактних тварин, тоді як у гіпокампі вміст як прозапальних (IL-1 β , TNF- α), так і протизапальних (IL-6, IL-10) цитокінів виявився істотно збільшеним, що засвідчувало активацію цієї ланки нейрозапалення. Вміст ендogenous β -амілоїдного пептиду (β A40_Rat) у щурів збільшувався у лобно-фронтальній корі, гіпокампі та сироватці крові і на 7, і на 30 добу після інтрацеребрального введення ліпосомної форми β A40_Human. Двогодинна інкубація мононуклеарів з β A40_Human у складі ліпосом супроводжувалась підвищенням вмісту IL-1 β , IL-6 і IL-10. Через добу інкубації мононуклеарів була зафіксована нормалізація концентрації IL-1 β і подальший ріст рівней IL-6 і IL-10.

У складі ліпосом неагрегований β -амілоїдний пептид людини зумовлює цитокінову відповідь у щурів як *in vivo*, так і *in vitro*. Ми пояснюємо отримані результати не токсичністю або мембранотропністю, які характерні для олігомерів β A40, а безпосередньо активуючою дією β A40_Human на систему цитокінів і ендogenous β -амілоїдний пептид як сигнал небезпеки.

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ УРАЖЕНЬ КЛІТИН ЗА РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЙ ОРГАНІВ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ*СОКУР О. В.**Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;**e-mail: dolesya60@mail.ru*

Одним із механізмів задіяних у розвиток патологій органів шлунково-кишкового тракту є запально-деструктивні процеси в слизовій оболонці шлунка і товстої кишки, які зумовлюють порушення секреторних і моторних функцій та мікроциркуляції. Виняткова роль в регуляції структури і функцій біологічних мембран, проліферації, диференціюванні, внутрішньоклітинній сигналізації та апоптозі належить збалансованому функціонуванню різних ланок сигнальних мереж, антиоксидантній системі, системі оксиду азоту і глутатіону. Метою роботи було встановити загальні механізми і особливості функціонування різних ланок сигнальних систем у клітинах слизової оболонки шлунка і товстої кишки за розвитку патологій органів шлунково-кишкового тракту.

На експериментальних моделях стресіндукованої виразки шлунка, атрофічного гастриту та колітасоційованого канцерогенезу досліджено структурно-функціональний стан мембран парієтальних клітин шлунка і епітеліоцитів товстої кишки, процеси пероксидного окислення ліпідів, функціонування системи антиоксидантного захисту, оксиду азоту, циклонуклеотид-, Ca^{2+} -залежних і тирозинових протеїніназ.

Встановлено, що одним із перших етапів запуску патобіохімічних каскадів при стресіндукованих виразках шлунка і атрофічному гастриті є активація ПОЛ, порушення у функціонуванні системи антиоксидантного захисту і оксиду азоту, тоді як за умов розвитку коліту основну роль на початкових етапах розвитку захворювання відіграє нітрозативний стрес. Різноманітні зміни в активності СОД і каталази за досліджуваних патологій не були вирішальним фактором захисту клітин від оксидативного стресу. Провідну роль в регуляції інтенсифікації процесів ПОЛ у клітинах відіграє система глутатіону. Підтвердженням цього є встановлена нами індукція ензимів глутатіонової ланки антиоксидантного захисту під час розвитку коліту. Виявлено, що формування і розвиток патологій супроводжуються суттєвими порушеннями обміну кальцію і, як наслідок, розладами функціонування Ca^{2+} -залежних ензимів фосфорилювання в клітинах слизової оболонки шлунка і товстої кишки. Показано, що внаслідок розвитку запальних процесів відбувається накопичення іонів кальцію, активація ПКС, ПКА та ПКГ. У той же час, на початкових етапах атрофічних порушень слизової оболонки шлунка та індукції канцерогенезу товстої кишки виявлено зниження активності цих протеїніназ із одночасним зростанням активності Ca^{2+} /кальмодулін залежної протеїнінази. На відміну від стресіндукованих уражень шлунка (інгібування активності як мембранної, так і цитозольної фракції тирозинових протеїніназ), пізні терміни запалення і процеси трансформації клітин у товстій кишці за коліту та індукції канцерогенезу супроводжуються зростанням активності цитозольних тирозинових протеїніназ, тоді як при аденокарциномі – рецепторних. Виявлено різноманітні зміни вмісту протеїнів регуляторів мітохондріальної ланки апоптозу Bax і Bcl-2 та процесів проліферації (Ki-67) в парієтальних клітинах шлунка і епітеліоцитах товстої кишки. Перевага процесів апоптозу над проліферативними сприяє зниженню репаративних процесів у шлунку і товстій кишці та може бути причиною виникнення ерозій й виразок.

Таким чином, виразка шлунка, атрофічний гастрит, метаплазія шлунка, коліт та рак товстої кишки є стадіями порушення клітинного оновлення слизової оболонки шлунка і товстої кишки, які регулюються відповідними сигнальними каскадами.

KARYOTYPE EVOLUTION DRIVES PHENOTYPE CHANGES IN TRANSGENIC CELL LINES

¹STEPANENKO A. A., ¹KORETS K. V., ¹ANDREEVA S. V., ²HULEYUK N. R.,
¹MYKYTENKO D. O., ³VASSETZKY Y. S., ¹KAVSAN V. M.

¹*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: a.a.stepanenko@gmail.com;*

²*Institute of Hereditary Pathology, National Academy
of Medical Sciences of Ukraine, Lviv;*

³*CNRS UMR8126, Université Paris-Sud II, Institut de Cancérologie
Gustave Roussy, France*

Chromosome instability (CIN) is the driver and catalyzer of cellular immortalization, malignant transformation, metastasis, and drug resistance. CIN refers to the rate of karyotype changes in cell population and implies both the clonal (CCAs) and non-clonal (NCCAs) chromosome aberrations, which comprise the whole chromosome and segmental chromosome instability (translocations, breaks, deletions, and amplifications).

To study the patterns of CCAs/NCCAs after genotoxic stress (integration of foreign DNA into genome and overexpression of cancer-associated gene CHI3L1) and to establish the link between changes of karyotype and malignant phenotype, we used 293 cell line and its derivatives, CHI3L1-overexpressing cells and two independently derived empty vector transfected variants.

Cell lines were karyotyped using Giemsa differential staining of chromosomes. To evaluate the individuality of cell lines and to establish the patterns of CCAs/NCCAs, the following karyotype parameters of 20 metaphases were analyzed: (1) total line-specific chromosome number, (2) total number of marker chromosomes per cell line, (3) line-specific marker chromosomes, (4) total number of NCCAs per cell line, (4) total frequencies of NCCAs per cell line, and (5) variations of non-clonal markers between individual cells in cell line. Array comparative genome hybridisation (aCGH) was applied to elucidate sub-chromosomal changes. Phase-contrast morphology analysis, MTT viability test, and growth in soft agar assay were used to find out karyotype-phenotype correlations.

Higher frequency and number of NCCAs correlated with lower proliferation level of the empty vector transfected derivatives. CHI3L1 overexpression counterbalanced this negative effect. Epithelial-mesenchymal transition was observed. Higher frequency and total number of NCCAs/CCAs correlated with colony formation efficiency in soft agar.

Either transfection of the empty vector pcDNA3.1 or pcDNA3.1_CHI3L1 induced CIN and phenotype changes. Karyotypes of cell lines after genotoxic stress evolved stochastically and were individual with different patterns of CCAs/NCCAs. The pattern of CCAs/NCCAs of cells depended on the nature of genotoxic stress and number of passages in culture after genotoxic stress.

NODULAR THYROID GOITER-RELATED OXIDATIVE STRESS MIGHT BE TRIGGERED BY COPPER-METALLOTHIONEIN

^{1,2}FALFUSHYNSKA H., ^{1,2}GNATYSHYNA L., ¹ARTYSH O.,
²SHULGAI A., ²SHIDLOVSKI V., ¹STOLIAR O.

¹*Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine;*

²*I. Ya. Horbachevski Ternopil State Medical University, Ukraine;
e-mail: halynka.f@gmail.com*

Thyroid disorders are the second most common endocrinopathies found in human and animals. Determination of the key molecular markers is of considerable interest as they can be utilized for predicting and diagnostics of such pathologies. Free radical-mediated oxidative damage has been implicated in pathogenesis

of a large number of diseases. However, under endemic nodular thyroid goiter the reasons for this phenomenon are disputable. The objective of this study was to evaluate the relation between the function of stress-related metal-keeping protein metallothionein and oxidative stress in node, paranodular and non-affected by node contralateral part tissue of human thyroid gland under iodine deficiency endemic nodular thyroid goiter. Oxidative stress response was determined from superoxide dismutase, catalase and glutathione-S-transferase activities, reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione, concentration of TBA-reactive substance (TBARS) and oxyradical formation. Metallothionein function was detected from the level (MT-SH) and metal-binding ability (MT-Me). Molecular markers of cytotoxicity (cathepsin D release from lysosomes, DNA strand breaks), subcellular distribution of iodine and copper were assayed.

The results showed the coherent activation of superoxide dismutase (by 81%), catalase (up to two times) and glutathione-transferase (by 212%), decrease of GSH level (by 33%) and increase of metallothioneins level (both MT-SH and MT-Me) in affected part of thyroid gland. Higher level of oxyradicals (by 21%), GSSG (by 41%) and TBARS (two times) has been also detected in this part. A relation between MT-SH and oxyradical level in thyroid gland was proved. Signs of cytotoxicity – higher free cathepsin D activity (up to 84.6 % and 134.4% in paranodular tissue and node respectively) and higher level of DNA strand breaks in node (up to 22.6%) – were observed. In paranodular tissue range of indices variability as comparing with parenchyma of contralateral part was lesser than in node, but had the same trend in general.

The highly important finding was lower level of organificated iodine (by 23 and 15%, respectively) and higher level (by 46 and 32%, respectively) and mass fraction (by 42% and 82% respectively) of inorganic iodine in the node and paranodular tissue *versus* contralateral part of thyroid gland. Supposedly, the disruption of iodine organification in hyperplastic thyrocytes could be caused by elevated copper level (more than twice) in thyroid gland. Excess of unbound to metallothionein copper in goitrous-changed tissue and high level of inorganic iodine could be the reason for elevated DNA fragmentation ($r > 0.51$, $P < 0.01$), increasing of lysosomal membranes permeability ($r > 0.67$, $P < 0.01$) and activation of antioxidant defence ($r > 0.59$, $P < 0.01$, only for inorganic iodine). In order to select the main risk factors of goiter formation, principal component analysis was applied. The main criterions were represented by MT-SH and MT-Me, cathepsin D free activity, level of DNA damage, copper and inorganic iodine concentration.

The combination of endemic iodine deficiency with a high environmental copper level enhances the risk of node formation and progress of pathological changes. Under low level of iodine organification and high copper level in goitrous tissue of thyroid gland, metallothionein may provide a partial compensatory effect on prooxidative processes. The effects on the secretion of the cathepsin D could be dependent on the accumulation of copper inside of thyrocytes lysosomes.

This work has been granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (Project # 125B), State Fund of Fundamental Research (GF/056/017) and West Ukrainian Biomedical Research Center.

РОЛЬ ОКИСЛЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У МЕХАНІЗМАХ ОДНОЧАСНОГО ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ФОСФОРОРГАНІЧНИХ СПОЛУК ТА ТЕТРАХЛОРМЕТАНУ

ФІРА Л. С., БОЙКО Л. А.

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України», Україна;
e-mail: ludafira@mail.ru, lariusaboyco@mail.ru*

Отруєння фосфорорганічними сполуками (ФОС) можливе на виробництві, у сільському господарстві та у побуті. ФОС є нейротропною отрутою, що вражає переважно парасимпатичну частину вегетативної нервової системи і діє загальнотоксично на центральну нервову систему. Основну роль у механізмі дії ФОС відіграє пригнічення активності ензиму холінестерази, який бере участь у процесі передавання нервових імпульсів. Поряд із цим зустрічаються випадки отруєння ФОС у лю-

дей, яким діагностовано токсичний гепатит. Тому, актуальним є вивчення механізмів поєднаної дії ФОС та тетрахлорметану, який є класичною гепатотропною отрутою.

В роботі наведені результати дослідження вільнорадикальних процесів за поєднаної дії фосфорорганічних сполук (карбофосу) та тетрахлорметану. Дослідження проведені на статевозрілих білих щурах, які були розділені на дві групи: 1 – інтактного контролю; 2-а – щури, які отримували карбофос у дозі 20 мг/кг маси тіла протягом 10 днів та тетрахлорметан у дозі 0,2 мл на щура дворазово (через день). Евтаназію проводили на 10-ий день після отруєння карбофосом. Перед цим щури отримували тетрахлорметан (термін розвитку токсичного гепатиту припадав на 4-у та 7-у доби після останнього введення токсиканта).

Встановлено, що на 10 добу після введення карбофосу та 4-у добу ураження тетрахлорметаном у сироватці крові вміст ТБК-АП зростав у 1,4 раза, у печінці – у 1,3 раза. Через 10 днів після застосування карбофосу та 7-у добу розвитку гепатиту цей показник перевищував рівень інтактного контролю у сироватці крові у 1,8 раза, у печінці – у 1,4 раза.

Враховуючи кардіотоксичний ефект фосфорорганічних сполук, досліджено рівень процесів ліпопероксидації у міокарді тварин, який на 10 добу отруєння карбофосом (4-а доба гепатиту) на 14% перевищував рівень інтактних тварин, у термін 7 днів після ураження тетрахлорметаном на тлі карбофосної 10-денної інтоксикації вміст ТБК-АП виявився на 21% вищим від рівня норми. Поряд із процесами ліпопероксидації ми досліджували показники окислювальної модифікації протеїнів (вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів). Виявлено, що цей показник підвищувався в обидва терміни наших досліджень. Найвищим виявився вміст 2,4-ДНФГ основного характеру в печінці, який до кінця дослідження становив 118% від рівня інтактних тварин. Вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в печінці в кінці експерименту підвищився на 27% порівняно з нормою.

Таким чином, встановлено, що за умов одночасного отруєння щурів карбофосом та тетрахлорметаном активуються процеси вільнорадикального окислення, що підтверджується підвищенням вмісту ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгідрозонів у досліджуваних тканинах.

ЗМІНИ ПРОТЕАЗНО-АНТИПРОТЕАЗНОГО БАЛАНСУ ПРИ ЛЕЙКЕМІЇ

ШЕВЦОВА А. І., ГОРДІЄНКО Ю. А., ШАУЛЬСЬКА О. Е., ДЯЧЕНКО Л. М.

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»;
e-mail: shevtsova-a@mail.ru*

За фізіологічних умов у багатоклітинних організмах існує рівновага між активністю протеолітичних ензимів та їхніми інгібіторами. Ця рівновага порушується за патологічних станів внаслідок модифікації структури протеїнів, що спричинена активацією процесів вільнорадикального окислення. Відомо, що канцерогенез супроводжується зниженням деградації протеїнів у проліферуючих клітинах на тлі підвищення протеолізу у плазмі крові. Однак злякисні новоутворення кровотворної тканини відрізняються за етіологією та метастатичним потенціалом від інших пухлин. Здатність до міграції та пенетрації периферичних тканин є фізіологічною характеристикою клітин крові, що зумовлюється синтезом у цих клітинах протеолітичних ензимів, у тому числі й матриксних металопротеїназ. На сьогодні залишається нез'ясованим, чи змінюється протеазно-антипротеазна активність клітин крові при різних формах лейкемії і як впливають на цю систему цитостатики антрациклінового ряду. Метою нашої роботи було визначення активності трипсиноподібних ензимів (ТПА), матриксних металопротеїназ ММП2/9, їхніх специфічних та неспецифічних інгібіторів у хворих на різні форми лейкозу.

Для дослідження використовували цитратну плазму хворих на гострий мієлолейкоз (ГМЛ, $n = 10$), хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ, $n = 7$) та множинну мієлому (ММ, $n = 8$). Групу контролю склали клінічно здорові донори ($n = 20$). Активність латентних та зрілих форм ММП2 та ММП9 оцінювали методом прямої ензим-зимографії, тканинних інгібіторів матриксних металопротеїназ ТІМП1 та

ТІМП2 – методом реверсивної зимографії, ТПА та антитрипсин визначали колориметричним методом, α -2-макроглобулін – методом імуноензиматичного аналізу. Дослідження проводили до та через 4 доби після початку терапії антрацикліновим антибіотиком даунорубіцином (ДР) або адрибластином (АБ).

Встановлено, що у хворих з ГМЛ до початку терапії активність проММП9 була суттєво зниженою і становила $0,28 \pm 0,01$ ум. од., після введення ДР цей показник зростав майже в 7 разів; рівень ТПА, навпаки, був підвищений на початку захворювання, але після хіміотерапії знижувався. При ХМЛ спостерігалось достовірне підвищення ММП9 на фоні нормального рівня активності його латентної форми; застосування ДР призводило до зменшення рівня обох форм ММП9, причому, активність проММП9 знижувалась у 3 рази відносно норми. При ММ активність проММП9 була зниженою у 17 разів, а ММП9 – підвищеною у 1,3 раза, але після застосування АБ рівень активності обох форм знижувався, причому активність проММП9 була нижче норми у 3 рази. Навпаки, ТІМП1 у цій групі був найбільш високим і практично не змінювався після введення АБ. Антитриптична активність плазми крові змінювалась в залежності від типу лейкозу і не корелювала зі змінами рівня ТІМП та матрикс-деградуючих ензимів.

За лейкемії має місце порушення протеазно-антипротеазного балансу у крові, при цьому напрям змін залежить від типу трансформованих клітин. Найбільш суттєві зміни відбувалися на рівні латентної та зрілої форм ММП9. Співвідношення проММП9/ММП9 можна застосовувати як додатковий критерій моніторингу та ефективності хіміотерапії проліферативних захворювань крові.

VITMIN D₃ IN CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS ASSOCIATED WITH EXPERIMENTAL TYPE 1 DIABETES

SHYMANSKYI I. O., LABUDZYNKYI D. O., MAZANOVA A. O.

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv;
e-mail: ishymansk@inbox.ru*

Secondary osteoporosis is known to be one of the complications of diabetes mellitus associated with alterations in bone metabolism that leads to increased risk for bone fractures. It has been suggested that vitamin D₃ insufficiency/deficiency, systemic inflammation and oxidative stress can activate bone resorption and reduce bone mineral density in diabetes. Taking into consideration that the liver plays a key role both in vitamin D₃ metabolism and in initiating and propagating the systemic inflammatory response, the aim of this study was to evaluate the association between the prooxidant and proinflammatory state of the liver, 25-hydroxyvitamin D₃ (25OHD₃) formation and bone resorption in streptozotocin-induced diabetes and to assess the effects of vitamin D₃ supplementation (15 IU/mouse per os, for 8 weeks).

It has been shown that diabetes was associated with the development of vitamin D₃-deficiency characterized by a decrease in the content of serum 25OHD₃ (by 40%) and changes in the expression of the major isoforms of vitamin D₃ 25-hydroxylase in liver tissue. The level of the mitochondrial isoform of vitamin D₃ 25-hydroxylase (CYP27A1) was found to be significantly reduced, while the level of microsomal isoform CYP2R1 was elevated in diabetes vs. control.

Diabetes led to increased oxidative-nitrosative stress as is evident from enhanced reactive oxygen and nitrogen species generation as well as accumulation of carbonylated and nitrated proteins in liver tissue vs. control. Elevated production of free radicals can, at least in part, be responsible for DNA damage-associated activation of poly(ADP-ribose)polymerase 1 (PARP-1) as a marked rise in the level of poly-ADP-ribosylated proteins was established. In addition, pro-inflammatory factors, such as phosphorylated nuclear factor kappa B (NF- κ B/p65), and NF- κ B mediated expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were shown to be upregulated in liver, suggesting increased inflammatory response in liver tissue of diabetic animals compared to control.

We hypothesized that liver inflammation as well as oxidative-nitrosative and genotoxic stress established in diabetes can promote hepatocellular death and hence reduce 25OHD₃ synthesis. Indeed, examination of diabetic livers demonstrates a significant increase in the number of hepatocytes capable to accumulate propidium iodide that is associated with necrotic cell death. Moreover, diabetes also caused a marked increase in the levels of caspase 3 and 89 kDa cleaved fragment of PARP-1, indicative of apoptosis occurring in parallel with necrotic death. Diabetes-associated lack of 25OHD₃ may interfere with intestinal calcium absorption and therefore decrease calcium availability for bone formation. It was shown that progression of hypocalcemia and hypophosphatemia in diabetes was accompanied by a significant loss of mineral components in bone tissue, decreased length and width of the femoral and tibial bones. The increased circulating and tissue-derived proinflammatory cytokines may also promote osteoclast activity and bone resorption through modifying the receptor activator of NF-κB (RANK)/RANK ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) pathway. Diabetes reduced the level of OPG and increased the level of RANKL in serum that indicates the prevalence of bone resorption over osteosynthesis. Complete restoration of 25OHD₃ content was achieved by D₃ treatment. Vitamin D₃ caused partial normalization of markers of liver oxidative-nitrosative stress and inflammation that correlated with better hepatocellular survival, 25OHD₃ synthesis and improved bone formation/resorption.

In conclusion, the data suggest that abnormal oxidative metabolism and inflammation in liver related to type 1 diabetes can promote hepatocellular death and hence reduce 25OHD₃ synthesis in hepatocytes that may lead to osteoporosis. Our findings can be considered as an experimental substantiation for the efficacy of vitamin D₃ in the prevention or correction of metabolic changes and impairments of bone remodeling associated with type 1 diabetes.

СТЕНДОВІ ПОВІДОМЛЕННЯ**ПОШУК СПОЛУК ІЗ АНТИОКСИДАНТНОЮ
АКТИВНІСТЮ СЕРЕД ВОДОРОЗЧИННИХ СОЛЕЙ
3,8-ДИЗАМІЩЕНИХ КСАНТИНІЛ-7-АЦЕТАТНИХ КИСЛОТ**

*АЛЕКСАНДРОВА К. В., ЛЕВІЧ С. В., БСЛЕНІЧЕВ І. Ф.,
БУХТІЯРОВА Н. В., БІЛЕНЬКИЙ С. А., БІЛОКОНЬ Л. Є.*

*Запорізький державний медичний університет, Україна;
e-mail: aleksandrovaev55@gmail.com*

Активні форми кисню (АФК) є однією із ключових ланок патогенезу багатьох захворювань, в тому числі і гострих порушень мозкового кровообігу. Надмірний вміст АФК в умовах антиоксидантної недостатності призводить до окислювальної модифікації протеїнів, пероксидного окислення ліпідів мембран клітин та до пошкодження ядерно-хроматинового апарату клітини. Основним компонентом реакції утворення найбільш агресивних цитотоксинів (наприклад, гідроксильного радикалу та пероксинітриду) є супероксидрадикал, який за ішемії збільшує активність індукцибельної NO-синтази і, як наслідок, гіперпродукцію NO-радикалу. Накопичення NO-радикалу на фоні зниження активності тіол-дисульфідної системи призводить до пригнічення рибонуклеотидредуктази та до ушкодження ензимів мітохондріального дихання (прямий цитотоксичний ефект), а також до зростання рівня вторинних АФК (непрямий цитотоксичний ефект).

У зв'язку з вищезазначеним, доцільним є використання в гострий період ішемії мозку препаратів-антиоксидантів, які можуть відігравати роль пасток вільних радикалів та знижувати цитотоксичні ефекти первинних та вторинних АФК. На жаль, на теперішній час таких засобів недостатньо, що робить проблему їх створення актуальною.

Похідні ксантину проявляють широкий спектр біологічної активності та володіють вираженими антиоксидантними властивостями, саме тому похідні цього природнього гетероциклу, що містять в своїй структурі фармакофорні залишки, привернули нашу увагу в аспекті створення потенційних нейропротекторів. Метою даного дослідження був пошук сполук із антиоксидантною активністю серед водорозчинних солей 3,8-дизаміщених ксантиніл-7-ацетатних кислот.

Визначення антиоксидантної активності (АОА) сполук проводили з використанням *in vitro* методів оцінки АОА, що відображають різноманітні етапи окислативного стресу. Особливу увагу приділяли здатності досліджуваних сполук знижувати рівень NO-радикалу, гіперпродукцію якого відтворювали фотоіндукцією натрій нітропрусиду. NO-інгібуючу активність визначали за збереженням вмісту аскорбінової кислоти. Для виявлення глибини патологічного процесу та ступеня розвитку окислативного стресу в тканинах головного мозку визначали окислені амінокислотні залишки протеїнів. Ініціацію окислювальної модифікації протеїну проводили в гомогенаті мозку нелінійних білих щурів, а АОА досліджуваних сполук визначали за вмістом маркерних продуктів альдегідфенілгідразонів та кетондинітрофенілгідразонів. Вплив речовин на рівень пероксидного окислення ліпідів встановлювали спектрофотометрично за рівнем малонового діальдегіду за неензиматичної ініціації вільнорадикального окислення.

Встановлено, що більшість водорозчинних солей 3,8-дизаміщених ксантиніл-7-ацетатних кислот проявляє антиоксидантні властивості, а деякі з них за силою дії перевищують еталонні препарати. Слід зазначити, що антиоксидантні властивості досліджуваних солей більшою мірою залежать від наявності й природи замісників у положенні 3- або 8-кислотного залишку, характеру катіону. Так, використання 2-гідроксиетиламіну як солеутворюючого агента та морфоліну приводило до значного підсилення АОА, в той час як бензиламін та піролідін знижували антиоксидантні властивості. Сила АОА досліджуваних солей також прямопропорційно залежала від їх концентрації, зниження якої в окремих випадках призводила до появи прооксидантних властивостей.

НЕЙРОХІМІЧНИЙ АСПЕКТ ВПЛИВУ ДОКСОРУБІЦИНІНДУКОВАНОЇ КАРДІОПАТІЇ

БАБЕЦЬ Я. В., УШАКОВА Г. О.

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: kristalxx@yandex.ru*

Антрациклінова терапія на сьогодні є одним із найефективніших засобів у лікуванні злоякісних новоутворень, проте вона супроводжується тяжкістю побічних ефектів, що часто призводять до кардіотоксичності з подальшим розвитком кардіопатії. Загальна токсична дія антрациклінових цитостатиків передбачає комплекс механізмів пошкодження направлених на розвиток окисного стресу, порушення ДНК мітохондрій і ядерної ДНК клітин, активації апоптозу, некрозу та інших шляхів ураження, пов'язаних із недостатньо вивченим метаболізмом доксорубіцину (ДР) в організмі. Вплив цитостатиків на мозок зрозумілий досить мало, адже до сих пір вважається, що антрациклінові препарати не здатні перетинати гематоенцефалічний бар'єр. Західними вченими широко вивчається доставка антрациклінових кон'югатів до мозку як лікувальних агентів гліом, гліобластом, нейробластом та ін. злоякісних новоутворень мозку, але практично не має досліджень щодо впливу самих цитостатиків на мозок. Отже метою нашої роботи було дослідження впливу ДР на астроглію (на прикладі гліального фібрилярного кислого протеїну (ГФКП)) у різних відділах мозку та пошук нейропротекторів токсичності – цитостатиків серед природних антиоксидантів із використанням експериментальної моделі ДР-індукованої кардіопатії.

Дослідження було проведене на самцях щурів лінії Вістар за схеми введення ДР 1 мг/кг 1 раз на тиждень протягом 4 тижнів. Тварини були розподілені на чотири групи: 1 – контрольні, що отримували фізіологічний розчин в/ч ($n = 5$); 2 – отримували ДР в/ч ($n = 8$); 3 – отримували α -кетоглутарат та ДР за наведеною схемою ($n = 8$); 4 – отримували корвітин в/ч у дозі 5 мг/кг за 30–60 хв перед введенням ДР. Концентрація ГФКП у цитозольній і цитоскелетній фракціях, що були отримані із різних відділів мозку щурів, визначали за допомогою імуноензиматичного аналізу.

Рівень розчинної форми ГФКП у дослідних відділах мозку становив в середньому від $0,44 \pm 0,11$ до $1,62 \pm 0,3$ мкг/100 мг тканини. Ін'єкції ДР протягом 4-х тижнів не призвели до значимих змін у рівні розчинного ГФКП у гіпокампі, корі великих півкуль та таламусі. У мозочку спостерігалось зменшення рівня ГФКП на 33%, $P < 0,04$. За додавання антиоксидантних препаратів корвітину та α -кетоглутарату не визначено суттєвого впливу на рівень розчинної форми ГФКП.

Рівень філаментного ГФКП (ф ГФКП) за впливу ДР коливався від $5,2 \pm 0,5$ до $63,4 \pm 5,5$ мкг/100 мг тканини. У гіпокампі визначено збільшення концентрації на 236%, $P < 0,003$, що може бути наслідком прискорення проліферації астроцитів, або біосинтезу даного протеїну. У мозочку також спостерігалось збільшення філаментної форми ГФКП на 50%, $P < 0,16$.

Отримані результати свідчать про вибірковий вплив ДР на астроглію у різних відділах мозку з найбільшим ризиком розвитку астрогліозу в гіпокампі. Застосування дослідних антиоксидантів не призвело до суттєвого запобігання зміни рівня ГФКП під впливом ДР.

ВПЛИВ ФЕТАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ НА КАТЕХОЛАМІНЕРГІЧНІ СИСТЕМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПІСЛЯ ТЯЖКОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

БАРАНЕНКО Б. О., ЦИМБАЛЮК В. І.

*ДУ «Інститут нейрохірургії ім.акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ;
e-mail: doktor_bab@mail.ru*

Враховуючи дані щодо визначальної ролі ураження нейронів дофамінергічної та норадреналінергічної систем головного мозку в розвитку віддалених наслідків черепно-мозкової травми (ЧМТ) та перспективність тканинної терапії в їх лікуванні, за мету роботи ми поставили дослідження впливу трансплантації фетальної нервової тканини (ФНТ) на вміст катехоламінів у структурах головного мозку щурів, яким була нанесена тяжка ЧМТ, а також впливу екстракту ФНТ 18-денних плодів щурів на катехоламінергічні нейрони в культурі нервової тканини новонароджених тварин.

Для моделювання тяжкої ЧМТ використовували безпородних статевозрілих щурів: інтактні тварини, тварини з ЧМТ, тварини з ЧМТ та трансплантацією ФНТ (по 10 голів у кожній групі). Тварин декапітували через 30 діб після нанесення травми. Трансплантацію ФНТ сенсомоторної області кори мозку 18-денних плодів щурів здійснювали через 2 год після нанесення ЧМТ. Для анестезії застосовували нембутал. Культивування експлантатів середнього та довгастого мозку здійснювали на поживному середовищі стандартного складу. Визначення катехоламінів у структурах головного мозку здійснювали методом високоефективної рідинної хроматографії з електрохімічним детектуванням. Статистичну обробку даних проводили з використанням *t*-критерію Ст'юдента.

Внаслідок проведених досліджень встановлено, що тяжка ЧМТ призводить до зниження вмісту нейромедіаторів у більшості досліджених структур головного мозку щурів через 30 діб після травми, а саме: у корі лівої (травмованої) півкулі у 2,5 раза знижений рівень норадреналіну, в гіпоталамусі рівень дофаміну та норадреналіну знижується в 1,2 та 1,4 раза відповідно, у стріатумі рівень дофаміну після травми знижується в 1,6 раза. Трансплантація алогенної фетальної нервової тканини сприяє підтримці вмісту нейромедіаторів у травмованій півкулі, гіпоталамусі та стріатумі в межах, близьких до контрольних. Результати дослідження впливу екстракту фетальної нервової тканини на вміст дофаміну та норадреналіну в катехоламінергічних нейронах у культурі вказують на зростання вмісту дофаміну в експлантатах середнього мозку в 1,5 раза, в нейронах довгастого мозку – в 3,8 раза, а норадреналіну в 2,5–2,6 раза при введенні 1%-го екстракту ФНТ.

Таким чином, на підставі проведених експериментів можна зробити висновок про стимулюючий вплив трансплантації алогенної фетальної нервової тканини на нормалізацію вмісту нейромедіаторів у різних відділах мозку тварин, що перенесли тяжку ЧМТ, а також екстракту ФНТ на синтез катехоламінів у культурі нервової тканини.

N-STEAROYLETHANOLAMINE SUPPRESSES THE LPS-INDUCED PRODUCTION OF IL-1 IN RAT MACROPHAGES BY INACTIVATING NF- κ B

BERDYSHEV A. G., KOSYAKOVA G. V., HULA N. M.

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

N-acylethanolamines or acylethanolamides (NAEs) are endogenous lipids that play important roles in numerous physiological and pathological processes. Some unsaturated NAEs which have ability to bind and activate CB receptors (anandamide). Other N-acylethanolamides, with saturated (N-stearoylethanolamine

(NSE)) or monounsaturated acyl chains (N-oleoylethanolamine) are thought to be cannabinoid-receptor inactive. Some of the activities of saturated NAEs result from the 'entourage effect': cellular levels of anandamide are stabilized or increased because the other NAEs compete with anandamide for enzymatic degradation. Much evidence now suggests that NAEs are natural activators of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs). Previously, we have shown that NSE has anti-inflammatory action and accelerated the process of burn wound healing in the rat by the inhibition of cytokine IL-1 β (IL1 β) production. Numerous studies demonstrate that nuclear factor κ B (NF- κ B) controls expression of genes directing the initiation and progression of inflammation, including cytokine IL1 β . Also the PPAR- γ (PPAR γ) receptor subtype appears to play a pivotal role in the regulation of inflammation by blocking NF- κ B nuclear translocation. In this study we investigate the influence of NSE on the IL1 β production and NF- κ B nuclear translocation in a LPS-induced macrophage model.

Rat resident peritoneal macrophages were collected by lavaging the peritoneal cavity of rat with RPMI-1640 and cultivated directly on glass cover-slips in a 35 mm dish with LPS, NSE (10^{-7} M), activator PPAR γ LY171883 (2.5×10^{-5} M), inhibitor PPAR γ GW9662 (2.0×10^{-5} M) and its combination. IL1 β concentration in the culture supernatants was measured by IL-1 β ELISA kits (eBioscience, Austria). NF- κ B activation was determined by immunofluorescence assays by evaluating the nuclear translocation of p65 (NF- κ B). Cells were fixed with 3.5% paraformaldehyde in PBS for 10 min at room temperature and permeabilized with 0.2% Triton X-100 (in PBS) for 5 min. To investigate the cellular localization of NF- κ B, cells were treated with a polyclonal antibody (1 : 600) against NF- κ B p65 (Sigma-Aldrich) for 1.5 h. After extensive washing with PBS, cells were further incubated with a secondary FITC-conjugated donkey anti-rabbit IgG antibody (Sigma-Aldrich) diluted at 1 : 500 in PBS for 1 h at room temperature. Nuclei were stained with 0.5 mkg/ml of DAPI (Sigma-Aldrich), and then analyzed by confocal microscopy using a Zeiss LSM 510 Meta microscope. Randomly, 30-150 cells of each slide were counted with independently developed software based on ImageEn component suite (Xequite Software, New Zealand) to obtain the percentage of FITC particles (p65 subunit of NF- κ B) in nucleus.

Stimulation of cells with LPS for 1 h induced an increase of the p65 subunit in the nucleus from $58.9 \pm 7.7\%$ to $83.7 \pm 5.1\%$ and IL1 β concentration from 43.1 ± 0.3 pg/ml to 48.1 ± 1.0 pg/ml ($P < 0.05$). However, pre-incubation of the cells with NSE or LY171883 for 15 min prior to LPS completely inhibited LPS-stimulated IL1 β production (from 48.1 ± 1.0 to 43.0 ± 0.5 pg/ml and from 48.1 ± 1.0 to 36.8 ± 1.7 pg/ml respectively, $P < 0.05$) and p65 subunit translocation (by 11.58% and 58.24% respectively, $P < 0.05$). Pre-incubation of the cells with GW9662 for 15 min prior to LPS increase LPS-stimulated IL1 β content (from 46 ± 0.69 to 56 ± 0.23 pg/ml) and p65 subunit translocation (by 13.2%) compared with LPS-stimulated cells ($P < 0.05$). Pre-incubation of the cells with NSE for 15 min and GW9662 for 15 min prior to LPS decrease LPS-stimulated IL1 β content (from 48.1 ± 1.0 to 18.3 ± 1.7 pg/ml) and p65 subunit translocation (by 76.24%) compared with LPS-stimulated cells ($P < 0.05$). Pre-incubation of the cells with GW9662 for 15 min and then NSE for 15 min prior to LPS decrease LPS-stimulated IL1 β content (from 48.1 ± 1.0 to 36.8 ± 1.67 pg/ml) and p65 subunit translocation (by 76.5%) compared with LPS-stimulated cells ($P < 0.05$).

Thus, our findings indicate that NSE inhibits production of IL1 β induced by LPS in rat macrophage cells by inactivating NF- κ B via activation of PPAR γ .

МЕХАНІЗМ РОЗВИТКУ СТРЕСІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ ШЛУНКА: РОЛЬ ГІПОКСІЇ ТА ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА EGR-1

БЕРЕГОВИЙ С., ЄФИМЕНКО О., ОЛЕФІР Я., ТОЛСТАНОВА Г.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології», Україна;
e-mail: s_beregoviy@ukr.net*

Стресові навантаження є одним із патогенетичних чинників розвитку виразкової хвороби шлунка, опосередковані змінами у редокс стані епітеліоцитів шлунка за дії вазоконстриктора адреналіну та підвищенням рівня глюкокортикоїдів. Egr-1 (early growth response-1) – редоксчутливий транскрипційний фактор експресія якого регулюється глюкокортикоїдами.

Метою даної роботи було перевірка гіпотези, що транскрипційний фактор Egr-1 бере участь в патогенезі стресіндукованих уражень шлунка.

Експерименти проводили на нелінійних щурах-самцях масою 180–220 г. Виразки шлунка моделювали водно-імобілізаційним стресом (ВІ) тривалістю 20 хв, 1 та 3 год. Рівень кортизолу визначали хемілюмінесцентним методом із використанням комерційних наборів (SySmax, DPC, США). Для візуалізації клітин слизової оболонки шлунка у стані гіпоксії, використовували Нурохурprobe™-1 Kit (імуногістохімічна детекція аддуктів пімонідазол-НСІ з SH-групами протеїнів, що формуються в клітинах з рО₂ менше 10 мм рт. ст.). Експресію Egr-1 протеїну та мРНК визначали методом Western-blot аналізу та ПЛР зі зворотною транскрипцією.

У контрольних щурів рівень кортизолу складав $185,5 \pm 12,45$ нмоль/л, 20 хв дії ВІ стресу підвищувала рівень кортизолу в 1,9 раза ($348,0 \pm 25,17$ нмоль/л, $P < 0,05$), через 1 год ВІ стресу – в 2,3 раза ($417,3 \pm 11,06$ нмоль/л, $P < 0,05$), через 3 год рівень кортизолу зменшувався до $356,5 \pm 32,46$ нмоль/л, але залишався вищим за такий у контрольних щурів ($P < 0,05$). Імуногістохімічне дослідження не виявило аддуктів пімонідазол-НСІ з SH-групами протеїнів у слизовій та підслизовій оболонках шлунка інтактних щурів. ВІ стрес зумовлював накопичення аддуктів пімонідазол-НСІ з SH-групами протеїнів в епітеліоцитах, переважно парієтальних клітинах, слизової оболонки та підслизовій основі шлунка щурів. Позитивне забарвлення виявлялось вже через 20 хв дії ВІ стресу, через 1 год ставало інтенсивнішим в підслизовій основі. Розвиток гіпоксії та підвищення концентрації кортизолу за дії ВІ стресу асоціювались з різким підвищенням рівня мРНК Egr-1 в 2, 2,3 та 3 рази ($P < 0,05$) через 20 хв, 1 та 3 год, відповідно. Рівень протеїну Egr-1 у слизовій оболонці шлунка щурів також був підвищений після 20 хв дії ВІ стресу в 1,7 разів ($P < 0,05$), аналогічні зміни спостерігались після дії ВІ стресу впродовж 1 год. Під час збільшення тривалості дії ВІ стресу до 3 год спостерігалась непряма залежність між рівнем протеїну Egr-1 та кількістю виразок. У досліджуваних щурів із глибокими виразками рівень протеїну зменшувався у порівнянні з 1-ю год.

Вперше встановлено, що стресове навантаження зумовлює зниження рО₂ переважно в зоні парієтальних клітин шлунка щурів. Розвиток гіпоксії та підвищення концентрації кортизолу за дії ВІ стресу зумовлює підвищення експресії редоксчутливого транскрипційного фактора Egr-1 на ранніх стадіях експериментального виразкоутворення. Утворення виразок, за тривалої дії стресу, асоційовано зі зменшенням рівня Egr-1.

**ВМІСТ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ У ЖОВЧІ ЩУРІВ ЗА УМОВ
ТРИВАЛОЇ ГІПОХЛОРГІДРІЇ ШЛУНКА***БЕРНИК О. О., ДВОРЩЕНКО К. О., ВЕСЕЛЬСЬКИЙ С. П.**Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail.: oksana.bernyk@univ.net.ua*

Довготривале зниження секреції гідрохлоридної кислоти шлункового соку (гіпохлоргідрія) може спричинювати розвиток атрофічного гастриту. Запальний процес у слизовій оболонці шлунка і патології біліарного тракту були і залишаються найбільш поширеними гастроентерологічними захворюваннями. Однак, причинно-наслідкові зв'язки до кінця нез'ясовані. Гастрогенна гіпотеза припускає, що первинними є ураження шлунка: запальний процес у слизовій оболонці, порушення моторики і секреції, що сприяє бактеріальній контамінації дванадцятипалої кишки та призводять до інфікування жовчовивідних шляхів. Ряд дослідників пов'язують порушення вироблення гастрину, холецистокініну і секретину, характерне для хронічних гастритів, з подальшим розвитком патологічного холекінезу і дисхолії. Жовчні кислоти є основними ендогенними регуляторами метаболічної активності гепатоцитів. Тому метою даного дослідження було оцінити рівень жовчних кислот за умов тривалої гіпохлоргідрії.

Досліди проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях. Гіпохлоргідрію моделювали внутрішньочеревним введенням 14 мг/кг омепразолу (ОМ) 1 раз на добу упродовж 28 діб. Контролем слугували щури, яким протягом 28 днів вводили в/ч 0,2 мл води для ін'єкцій. У жовчі щурів методом тонкошарової хроматографії та за допомогою денситометра ДО-1М визначали концентрації вільних (холева – ХК, суміш хенодезоксихолевої – ХДХК і дезоксихолевої – ДХК) та кон'югованих (таурохолева – ТХК, суміш таурохенодезоксихолевої – ТХДХК і тауродезоксихолевої – ТДХК, глікохолевої – ГХК, суміш глікохенодезоксихолевої – ГХДХК і глікодезоксихолевої – ГДХК) жовчних кислот із подальшим розрахунком їх дебітів. Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики на основі 10 повторів ($M \pm m, n = 10$) з використанням програмного пакета «GraphPad Prism 6.00».

У щурів з експериментальною гіпохлоргідрією концентрація всіх досліджуваних фракцій жовчних кислот у жовчі перевищувала контрольні значення. Так, значення дебіту ТХК було більшим за контрольні показники в 1,3 раза ($P < 0,05$). Біохімічний аналіз жовчі показав, що за умов 28-денного введення омепразолу спостерігається збільшення абсолютного вмісту таурокон'югатів хенодезоксихолевої та дезоксихолевої кислот у жовчі щурів: абсолютний вміст суміші ТХДХК+ТДХК достовірно перевищував показники контролю в 1,4 раза ($P < 0,05$). Іншою важливою складовою кон'югованих жовчних кислот є глікохолати. Так, за умов гіпохлоргідрії спостерігалось збільшення дебіту глікохолевої кислоти в жовчі щурів в 1,3 раза ($P < 0,05$). Вміст ГХДХК+ГДХК у жовчі щурів за гіпохлоргідрії в 1,5 раза ($P < 0,05$) перевищував контрольні показники. Порівняльний аналіз змін вмісту некон'югованих холатів у контролі і досліді показав підвищення рівня вільних жовчних кислот у 1,2 раза ($P < 0,05$).

Отже, підвищення рівня всіх фракцій жовчних кислот може вказувати на посилення їх синтезу гепатоцитами та активацію процесів кон'югації у печінці за умов довготривалої гіпохлоргідрії.

НЕЙРОНСПЕЦИФІЧНА ЕНОЛАЗА ТА ІОННИЙ ГОМЕОСТАЗ ЯК МАРКЕР БІОХІМІЧНОЇ ОЦІНКИ СТАНУ НОВОНАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ З ГІПОКСИЧНО-ІШЕМІЧНИМ УРАЖЕННЯМ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

¹БОРЕНКО О. Ю., ²ЛЯННА О. Л., ³ШЕВЧЕНКО Ю. А.,
¹ДЕМЕНТЬЄВА Н. А., ²БРАЗАЛУК О. З.

¹КЗ «Дніпропетровська обласна дитяча клінічна лікарня», Україна;
²ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»;
e-mail: olga_313@mail.ru

Гіпоксично-ішемічне ураження (ГІУ) головного мозку дотепер залишається однією з ключових проблем перинатальної неврології, що зумовлено високою поширеністю даної патології та значним ризиком формування дитячої інвалідності. У переважній більшості церебральну патологію визначають недоношені діти. Механізми, за якими розвивається гіпоксичне ураження, реалізуються через складний каскад патофізіологічних процесів, результатом яких є загибель нейрону. Зростає кількість даних, які свідчать про те, що загибель нервових клітин при ішемії мозку відбувається у результаті як некрозу, так і апоптозу. На сьогодні виділено значну кількість біохімічних показників, які відображають процеси метаболічних розладів у ЦНС. Одним із перспективних в цьому напрямку методів є визначення нейроспецифічних протеїнів, зокрема нейронспецифічної енолази (НСЕ), яка вважається важливим показником пошкоджень нейронів та гемато-енцефалічного бар'єру. Наряду з цим особливого інтересу набуває визначення іонного гомеостазу, оскільки мікро- та макроелементи здатні виступати як нейротрофічний фактор, а також ймовірно можуть залучатися до реалізації апоптозу. Метою дослідження є встановлення ролі нейронспецифічної енолази та іонного гомеостазу (іонів Na^+ , K^+ , Cl^- , P^{+3} , Cu^{+2} , Zn^{+2}) у недоношених та доношених дітей з гіпоксично-ішемічним ураженням головного мозку. Для реалізації поставленої мети нами досліджено сироватку крові 156 новонароджених дітей з ГІУ головного мозку у першу добу життя та впродовж періоду новонародженості. Встановлено, що у глибоко недоношених дітей з дуже малою вагою тіла (меншою 1500 г) з гіпоксичним ураженням ЦНС у сироватці крові визначається значно вищий рівень НСЕ, ніж у недоношених з малою вагою тіла та доношених дітей. Крім того, в цій же групі дітей визначено також зростання концентрації іонів цинку у динаміці першого місяця життя. Найнижча концентрація НСЕ (менша 40 нг/мл) визначена в групі доношених дітей з вагою тіла більшою 3500 г. Показано, що за наявності тяжкої асфіксії під час народження вміст НСЕ зростає впродовж першого місяця життя. За наявності набряку головного мозку спостерігається підвищення концентрації НСЕ (вище 140 нг/мл), що супроводжується високим ризиком летального результату. Слід зазначити, що концентрації макроелементів (Na^+ , K^+ , Cl^- , P^{+3}) мали різноспрямовану тенденцію до змін, яка залежала від терміну гестації, ваги дитини та характеру супровідної патології. У складному комплексі метаболічних порушень при перинатальному ураженні ЦНС гіпоксично-ішемічного генезу вивільнення НСЕ свідчить про реалізацію процесу клітинної смерті нейронів, характер якого важко визначити з наведених даних. Зважаючи на суперечливість інформації щодо рівнів нейротрофічного забезпечення та невизначеного ступеня їх впливу на динаміку показників НСЕ, доцільним, на нашу думку, є подальше дослідження цієї проблеми з позиції протеолітичних подій, які мають місце за ГІУ головного мозку новонароджених, зокрема особливостей активності металоматриксних протеаз, катепсинів тощо. Таким чином, комплексний біохімічний аналіз сироватки крові слугуватиме покращенню розуміння патологічних процесів, які мають місце при гіпоксично-ішемічному ураженні головного мозку новонародженої дитини.

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ТРОМБОЦИТІВ У ХВОРИХ НА РАК ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

БУРЛАКА Ю. Б., ГРИНЬ Н. В.

*ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О. С. Коломійченка НАМН України», Київ;
e-mail: burlakaiuliia@yahoo.com*

Відомо, що онкологічні хворі відносяться до групи високого ризику розвитку спонтанних і післяопераційних тромбозів і тромбоемболій. Однак наявні в літературі дані недостатньо відображають механізми формування тромбофілічного статусу в онкохворих та залежність ступеня порушень в системі гемостазу від стадії розвитку пухлини. Мета дослідження – визначити доопераційні показники агрегаційної функції тромбоцитів у хворих на рак верхніх дихальних шляхів залежно від стадії розвитку пухлини.

Досліджено агрегацію тромбоцитів у 23 хворих на рак гортані. У 10-ти хворих діагностовано II стадію захворювання, а у 13-ти – III стадію. Контрольну групу склали 10 практично здорових осіб (донорів). Визначення агрегаційної активності тромбоцитів проводили на автоматичному аналізаторі AP 2110 із застосуванням динатрієвої солі ADP (як індуктора). Дослідження дозозалежної ADP-індукованої агрегації є визнаним методичним підходом для оцінки показників первинної агрегації тромбоцитів, секреторних процесів у тромбоцитарних гранулах та реакції вивільнення останніми біологічно активних субстанцій.

Внаслідок проведеного дослідження встановлено, що при онкозахворюваннях верхніх дихальних шляхів спостерігається підвищення як спонтанної, так і індукованої агрегації тромбоцитів. Найбільш виражені зміни виявлено при III стадії раку. За II стадії захворювання спостерігається підвищення ступеня агрегації тромбоцитів при всіх використаних нами концентраціях ADP. Так, у разі концентрації індуктора 2,5 та 1,25 мкг/мл ці відміни були достовірними, а у разі 5,0 мкг/мл – на рівні тенденції ($P > 0,05$) порівняно до відповідних контролів. Для цієї ж групи показано підвищені значення швидкості агрегації: за концентрації індуктора 5,0 та 1,25 мкг/мл воно було на рівні тенденції ($P > 0,05$), а за 10,0 мкг/мл – достовірним. За часом початку максимального ступеня агрегації у хворих даної групи за всіх концентрацій ADP достовірних відмін не виявлено.

За III стадії раку гортані при концентрації індуктора 2,5 мкг/мл спостерігається підвищення ступеня агрегації тромбоцитів на рівні тенденції ($P > 0,05$), за всіх же інших використаних нами концентрацій ADP збільшення цього показника було достовірним. Швидкість агрегації тромбоцитів у цій групі хворих достовірно підвищується лише за концентрації ADP 5,0 мкг/мл, у разі 2,5 мкг/мл – лише на рівні тенденції ($P > 0,05$). Час початку максимального ступеня агрегації у хворих даної групи збільшується на рівні тенденції лише при концентрації ADP 2,5 мкг/мл.

Внаслідок проведеного дослідження показано, що у хворих на злоякісні новоутворення верхніх дихальних шляхів відбувається достовірне підвищення показників як спонтанної, так і індукованої агрегації тромбоцитів. Подібні зміни істотно впливають на формування тромбофілічного статусу та сприяють процесам розвитку метастазування пухлини.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ 5G/4G ГЕНА *PAI-1* ТА РІВНЯ ЙОГО ПРОДУКТУ ЗА АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ТА КАРДІОЕМБОЛІЧНОГО ІШЕМІЧНИХ ІНСУЛЬТІВ

¹БУРЛОВА-ВАСИЛЬСВА М. К., ¹САВЧУК О. М., ¹КРАВЧЕНКО Н. К.,
²ХОЛОДКОВА О. Л.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології», Україна;

²Одеський національний медичний університет, Україна;
e-mail: marinaburlova@gmail.com

В основі розвитку атеротромботичного та кардіоемболічного інсультів лежать порушення функціонування фібринолітичної системи. Одним із ключових компонентів тромболітичної системи є інгібітор активаторів плазміногену 1 типу (РАІ-1), який утворює неактивні комплекси з тканинним активатором плазміногену (t-РА) та урокіназою (uРА), інгібуючи фібриноліз. Генетична складова колювання РАІ-1 у крові полягає у наявності поліморфізму 5G/4G гена *PAI-1*. Метою цієї роботи було порівняти розподіл генотипів і алельних варіантів поліморфізму 5G/4G гена *PAI-1* у пацієнтів із атеротромботичним ішемічним інсультом, пацієнтів із кардіоемболічним ішемічним інсультом на фоні миготливої аритмії (МА) та здорових донорів, а також кількісно визначити рівень інгібітору у плазмі крові хворих.

У дослідженні взяло участь 112 хворих із гострим ішемічним інсультом, серед яких 59 – пацієнти з атеротромботичним ішемічним інсультом та 53 – пацієнти з кардіоемболічним ішемічним інсультом на фоні МА, а також 40 здорових донорів. У пацієнтів та донорів контрольної групи забір венозної крові проводили пункцією ліктьової вени з 8 до 9 години ранку натщесерце, в пробірку з розчином ЕДТА. Сформовано банк зразків ДНК хворих на інсульт та контрольної групи осіб. Надалі проводили генотипування для детекції поліморфізму 5G/4G гена *PAI-1* методом алельспецифічної ПЛР. Імуноензиматичний аналіз проводили у мікропланшетах із сорбційною здатністю за стандартною методикою для розчинних протеїнів.

Проведено порівняльний аналіз частот генотипів та алелів за поліморфізму 5G/4G гена *PAI-1* між досліджуваними групами пацієнтів та контрольною групою осіб. Аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним у кожній досліджуваній групі свідчив про випадковий розподіл генотипів у відповідності з розподілом Харді-Вайнберга, що свідчить про коректність результатів генотипування. Між групами пацієнтів із кардіоемболічним ішемічним інсультом на фоні МА (5G/5G – 9 (17%), 4G/5G – 23 (43%), 4G/4G – 21 (40%)) та з атеротромботичним ішемічним інсультом (5G/5G – 12 (20%), 4G/5G – 21 (36%), 4G/4G – 26 (44%)) достовірних відмінностей у розподілі генотипів виявлено не було. Також не було виявлено відмінностей у розподілі генотипів досліджуваних груп у порівнянні з контрольною (5G/5G – 5 (12,5%), 4G/5G – 19 (47,5%), 4G/4G – 16 (40%)). При дослідженні кількісних змін РАІ-1 у плазмах крові хворих було виявлено колювання концентрацій інгібітору. У групі хворих з атеротромботичним ішемічним інсультом рівень РАІ-1 становив $15,26 \pm 2,84$ нг/мл, в той час як за кардіоемболічного ішемічного інсульту на фоні МА спостерігалось значне відхилення від середнього показника групи. У 60% хворих на кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні МА концентрація РАІ-1 досягала $21,09 \pm 1,02$ нг/мл, перевищуючи показник, характерний для групи хворих з атеротромботичним ішемічним інсультом, майже на 40%.

Отримані нами дані вказують на можливе залучення тромбоцитарно-ендотеліальної ланки гемостазу у колюваннях рівня РАІ-1 за розвитку різних підтипів інсульту. Розширення розміру вибірки хворих може виявити залучення поліморфізму 5G/4G гена *PAI-1* у розвиток цих патологічних станів.

ПОЯВА В КРОВОТОЦІ МОЛЕКУЛ ПРОТРОМБІНОВОГО ПОХОДЖЕННЯ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ КАРДІОЕМБОЛІЧНОГО ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

БУРЛОВА-ВАСИЛЬЄВА М. К., РАКША Н. Г., САВЧУК О. М.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: nkudina@ukr.net*

Цереброваскулярні захворювання, зокрема, гострі ішемічні порушення мозкового кровообігу, залишаються на сьогодні однією з основних причин смертності та інвалідизації серед найбільш працездатного населення. До провідних патогенетичних чинників, що обумовлюють прогресування кардіоемболічного ішемічного інсульту та ускладнюють перебіг хвороби належать порушення на рівні компонентів системи гемостазу. Дезорганізація функціонування системи зсідання крові призводить до внутрішньосудинного тромбоутворення, зміни реологічних властивостей крові та порушення мікроциркуляції в ішемізованих тканинах. Деталізація молекулярних механізмів, що лежать в основі розвитку кардіоемболічного ішемічного інсульту має принципове значення не лише з точки зору розробки нових фармакологічних препаратів направленої дії, а й відкриває значні перспективи в області клінічної діагностики патологічних проявів системи гемостазу.

З метою характеристики стану системи зсідання крові за умов розвитку даної патології ми визначили загальний вміст молекул протромбінового походження та склад протромбінового пулу. Застосування поліклональних антитіл до протромбіну дозволило нам оцінити вміст не лише безпосередньо протромбіну, а й молекул, що містять епітопи протромбінового походження, зокрема, проміжні продукти активації протромбіну, тромбін та його комплекси. Згідно з одержаними результатами розвиток кардіоемболічного інсульту супроводжується зростанням вмісту молекул протромбінового походження (у 1,25 раза порівняно з показниками у донорів), що підтверджує факт розвитку протромботичного стану. Аналіз результатів Вестерн-блоту виявив присутність протеїнових фракцій в діапазоні молекулярних мас (Мм), що відповідають як протромбіну, так і продуктам його розщеплення. Так, присутні на блотограмі протеїнові фракції з Мм близько 72 та 37 кДа утворені, відповідно, протромбіном та тромбіном. Слід відмітити, що опосередковано про генерацію тромбіну свідчить накопичення в плазмі крові N-кінцевої частини молекули протромбіну – фрагменту F_{1+2} , Мм якого становить близько 40 кДа. Ідентифіковані нами протеїнові фракції з молекулярними масам 50 та 37 кДа можуть належати протромбіну 1 та 2, що узгоджується з даними літератури, відповідно до яких поява у кровотоці даних молекул слугує раннім маркером внутрішньосудинного згортання крові. Одним з проміжних продуктів під час утворення протромбіну є мезотромбін (Мм близько 70 кДа), участь якого у механізмах тромбогенезу пов'язана із здатністю впливати на тромбоцитарну ланку гемостазу. Викликаючи вторинну необоротну агрегацію тромбоцитів мезотромбін сприяє залученню нових тромбоцитів у формування тромбу, що, враховуючи нечутливість мезотромбіну до дії основних фізіологічних інгібіторів тромбіну, набуває особливого значення під час проведення антикоагулянтної терапії. Підвищення прокоагуляційного потенціалу системи гемостазу за умов накопичення мезотромбіну також може бути обумовлено його здатністю активувати фактори V, VIII, XIII зсідання крові. З огляду на той факт, що мезотромбін має як про-, так і антикоагулянтні властивості, які визначаються ступенем насичення молекули іонами натрію, варто підкреслити, що характерна для тромботичних станів гіпернатріємія обумовлює прояв переважно прокоагулянтної активності мезотромбіну. Присутність на блотограмі фракцій з Мм 100, 130, 250 кДа може бути результатом утворення за умов прогресування кардіоемболічного інсульту комплексів протромбіну та його похідних із протеїнами. Так, наприклад, поява у кровотоці комплексу тромбін-антитромбін III, з Мм 100 кДа, розглядається як один із діагностичних критеріїв тромбоутворення.

МЕТОД ЛІКУВАННЯ ВРОДЖЕНИХ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЗА ДОПОМОГОЮ ВВЕДЕННЯ *IN VIVO* КРИСТАЛІВ МОНТМОРИЛОНІТУ (ТЕХНОЛОГІЯ *IN VIVO*)

БУРЯЧЕНКО С. В.

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, Україна;
e-mail: semenb837@gmail.com

Вперше була реалізована на практиці технологія *in vivo* (системне введення через кров) лікування метаболічного генетичного захворювання фенілкетонурія. Раніше проблемою було наявність на шляху лікарських препаратів великої кількості потенційних тканин-мішеней (шкіра, м'язи, легені, мозок, печінка, клітини крові та ін.), що вимагало створення специфічних та ефективних систем адресної доставки генетичної конструкції. Такою специфічною системою доставки та відтворення дефектного гена *PAH R408W* є наноскопічні кристали глини, що можна вводити внутрішньовенно у кров'яне русло. Кристали глини монтморилоніту мають позитивний ефект при лікуванні генетичних метаболічних порушень у експериментальних тварин із відтвореною у поколінні патологією дефекту гена *PAH R408W* із порушенням метаболізму та обміну фенілаланіну.

Нами було створено лінію *Rahenu2* щурів, імітуючих хворих фенілкетонурією. У щурів розвивалась мікроцефалія. Її діагностували з венозної крові хвостової вени тварини по методу Гатрі. Визначалася концентрація фенілаланіну у сироватці крові. Було створено 2 групи: експериментальна і контрольна. Від хворих тварин отримували гепатоцити пункцією з наступним їх підрозшуванням на поживному середовищі з додаванням кристалів монтморилоніту. Після відтворення дефектного гену *PAH* у клітинній культурі, що відбувається за рахунок перекодування коензимного центру і добудови гена фенілаланін – 4 – гідроксилази іонами Fe^{2+} , проводять їх внутрішньовенну реімплантацію з подальшим усуненням дефекту фенілаланінгідроксилазної (ФАГ) активності клітин печінки. Кристали монтморилоніту добудовують дефектний ген за допомогою того, що несуть у своїх порах залишки рибоз, іонів металів, атомів деяких амінокислот. Вони стимулюють активність ензиму ФАГ під дією якого фенілаланін перетворюється у тирозин, активність гена *PAH* досягає 99%. Рівень фенілаланіну знижується до 3–6%.

У піддослідних щурів через 5 днів після проведення процедури внутрішньовенної реімплантації повністю відновилась активність ФАГ і нормалізувався рівень фенілаланіну у сироватці крові, що відбулося у результаті проникнення атомів заліза та рибози в дефектний ген, добудови та експресії ДНК гепатоцитів, активації коензимного центру ФАГ хворої тварини. У геномі трансформованих клітин виявлена стабільна інтеграція та ефективна транскрипція гена ФАГ. Дані імуноблотингу із специфічною по відношенню до ФАГ антисироватки виявили наявність імунореактивного протеїну ФАГ. У клітинах була зареєстрована птеринзалежна активність ФАГ, яка досягла 95% від активності ФАГ у контрольній групі.

Клітинні екстракти гепатоми щурів мали активність ФАГ, зареєстровану *in situ* по перетворенню фенілаланіну у тирозин. На цей метод по корекції генетичних хвороб обміну речовин, зокрема фенілкетонурії, покладаються великі надії так як метод не потребує хірургічного втручання.

HIGH EXPRESSION OF *CCKBR* GENE IS ASSOCIATED WITH ACINAR HYPERTROPHY, BUT NOT WITH PANCREATITIS-LIKE BIOCHEMICAL CHANGES UPON EXPERIMENTAL LONG-TERM HYPOCHLORHYDRIA

VAKAL S. E., DVORSHCHENKO K. O., DRANITSINA A. S.

*ESC «Institute of Biology», Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;
e-mail: sergii.vakal@univ.kiev.ua*

Development of pancreatitis-like biochemical changes and acinar hypertrophy upon experimental long-term hypochlorhydria (LTH) was revealed recently. Three hypothetical mechanisms connecting low gastric acidity with the development of abovementioned phenomena can be proposed: 1) effects of hypergastrinemia; 2) effects of dysbiosis due to loss of bactericidal properties of gastric juice; 3) direct action of acid-suppressing drugs on pancreas. Effects of hypergastrinemia are mediated through CCK_B R receptor encoded by *Cckbr* gene. Thus, if high serum gastrin is responsible for observed phenomena, there'll be a correlation between level of *Cckbr* expression and inflammatory/oxidative stress markers and acinar hypertrophy. The aim of current research was to assess the association between expression of *Cckbr* gene and pancreatitis-like symptoms and acinar hypertrophy upon experimental LTH.

All experiments were carried out with white non-strain pubescent male rats. Animals injected intraperitoneally with water were used as a control group. Intraperitoneal injection of omeprazole (14 mg/kg daily during 28 days) was used for suppression of gastric acid secretion (second group). Level of *Cckbr* and *Par2* genes expression was determined by semi-quantitative RT-PCR with densitometry. Cytomorphometric analysis was performed with ImageJ software. Amount of conjugated trienes (CT), ketodienes (KD) and reduced thiols, as well as Mn-SOD activity was assessed spectrophotometrically. Level of IL-8 was established with immunochemiluminometry. Statistical processing and correlation analysis were carried out in IBM SPSS Statistics.

Increased expression of *Cckbr* (1.8 times) and *Par2* (1.9 times) genes, as well as enlarged levels of pro-inflammatory cytokine IL-8 (4.4 times), KD (2.9 times), CT (2.4 times) and Mn-SOD activity (1.5 times) on the back of decreased amount of reduced thiols (1.3 times) upon experimental LTH were observed. At the same time, cross-section area of acini, nuclei and cytoplasm was 1.5, 1.9 and 1.3 times higher than in control group, respectively. Correlation analysis revealed strong positive correlation between level of *Cckbr* gene expression and cross-section area of acini ($r = 0.712$; $P < 0.001$), nuclei ($r = 0.689$; $P = 0.002$) and cytoplasm ($r = 0.734$; $P < 0.001$). Coincidentally, there was no strong correlation between *Cckbr* expression and level of IL-8 ($r = -0.154$; $P = 0.026$), KD ($r = -0.108$; $P = 0.038$), CT ($r = -0.192$; $P = 0.032$), reduced thiols ($r = -0.220$; $P = 0.027$), Mn-SOD activity ($r = 0.201$; $P = 0.034$) and *Par2* expression ($r = 0.104$; $P = 0.042$).

Strong positive correlation between *Cckbr* gene expression and acinar cytomorphometric indices, but not with inflammatory/oxidative stress markers were established, suggesting the role of hypergastrinemia in acinar hypertrophy, but not in the development of pancreatitis-like signs upon LTH.

THE CORRELATION OF PROTEIN METABOLISM INDEXES WITH SPORT-SPECIFIC PERFORMANCE OF ELITE OARSMEN AT DIFFERENT PERIODS OF ANNUAL SPORTS TRAINING CYCLE

¹VDOVENKO N. V., ¹MAYDANYUK E. V., ¹IVANOVA A. M.,
²OSIPENKO A. A., ¹PANYUSHKINA N. V.

¹State Scientific Research Institute of Physical Culture and Sports, Kyiv, Ukraine;

²National University of Physical Education and Sport of Ukraine, Kyiv

e-mail: natazly-v@rambler.ru

Investigation of athletes' metabolic changes can reveal the features of organism's adaptation to the heavy physical workloads. These changes particularly in the processes of protein metabolism can be followed by decreasing of athletes' performance especially in cyclic sport events. Concerning this the investigation of correlations between protein metabolism changes and sport-specific performance of elite oarsmen is topical for sport science and athletes' training. The aim - to investigate the correlations of proteins' metabolic state and sport-specific performance of elite oarsmen at different sports training periods.

Biochemical, physiological (ergometry, pulsometry), mathematical statistics. Elite oarsmen ($n = 12$) that are members of Ukrainian national team took part in experiment.

It was established that intensity of catabolic processes increases from general preparation period to competition period with the peak at sport-specific preparation period. This result is confirmed by the significant increasing of protein metabolism end products in athletes' blood during sport-specific preparation period.

The significant correlation was defined between changes in protein metabolism indexes and athletes' sport-specific performance: $r = -0.71$ ($P \leq 0.05$) between amount of total protein in blood and the overcoming time of 2000 m distance in model conditions of competition on rowing ergometer «Concept II», $r = -0.55$ ($P \leq 0.05$) between amount of total protein and lactate concentration.

The complex of the most informative protein metabolism indexes was defined. Index of total protein in blood is the most significant for sport-specific performance of elite oarsmen. The athletes with level of total protein higher than $74 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ showed the shortest time of overcoming the 2000 m distance in model conditions of competition on the rowing ergometer «Concept II», at this time the level of blood lactate concentration in these athletes was significant lower ($P \leq 0.05$) than in athletes with level of total protein lower than $74 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Also, concerning to the level of the total protein amount in elite oarsmen the significant differences were defined in blood lactate concentration at the third minute of recovery and in heart rate decreasing during first two minutes of recovery.

ЗВ'ЯЗУВАННЯ СЕЛЕНУ *Chlorella vulgaris* У КУЛЬТУРИ

ВІНЯРСЬКА Г. Б., БОДНАР О. І., СТАНІСЛАВЧУК А. В., ГРУБІНКО В. В.

Тернопільський національний педагогічний університет

імені Володимира Гнатюка, Україна;

e-mail: viniarska_halia@mail.ru

Широко використовувани в фармації селенвмісні субстанції недосконалі у зв'язку з тим, що є фізичними сумішами або продуктами хімічного синтезу неорганічних сполук селену та солей есенціальних металів, завдяки чому вони часто мають незбалансований склад, низьку ефективність та побічні ефекти. Тому, є потреба у створенні біологічно активних комплексів (у тому числі і з водоростей), з більшим біологічним ефектом та засвоюваністю. Зв'язування водоростями селену залежить від видових особливостей та їх метаболізму, молекулярної форми сполук селену, його концентрації і тривалості впливу. Мікрowodорості акумулюють селен, головним чином, до складу (протеїнів, полісахаридів і ліпідів), при цьому накопичення суттєво переважає його екскрецію.

Досліджували накопичення селену і його включення до складу високомолекулярних органічних сполук *Chlorella vulgaris* в культурі. Водорість вирощували в умовах накопичувальної культури. В середовище вносили селеніт натрію – 0,5; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³. Проби для аналізу відбирали на 3-тю та 7-му доби експерименту. Включення селену до складу вуглеводів було таким: на 3-ю добу вміст селену збільшився на 167, 33 та 25% за концентрацій селеніту в середовищі – 0,5; 5,0 та 20,0 мг/дм³ відповідно, а за дії 10,0 мг Se⁴⁺/дм³ спостерігали зменшення кількості мікроелементу на 20% щодо контролю; на 7-му добу за дії 0,5, 5,0 та 20,0 мг Se⁴⁺/дм³ кількість селену збільшилась відповідно на 33, 62 та 143% щодо контролю. Однак, у разі дії 10,0 мг Se⁴⁺/дм³ на 7-му добу кількість мікроелементу зменшилась на 52% порівняно з контролем. Вміст селену в протеїнах *Ch. vulgaris* збільшувався на 3-тю добу за дії всіх досліджуваних концентрацій селеніту. Найбільший вміст селену спостерігався на 7-му добу експерименту при концентраціях Se⁴⁺ 5,0 та 20,0 мг/дм³. Внесення селену у концентраціях 0,5; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³ на 3-тю добу експерименту зумовлювало збільшення вмісту мікроелементу відносно контрольних показників на 63, 72, 35 та 98% відповідно. На 7-му добу за дії 0,5; 5,0 та 20,0 мг Se⁴⁺/дм³ відбувалося подальше накопичення селену у протеїнах відповідно на 15, 228 та 106% відносно контролю. За дії концентрації 10,0 мг Se⁴⁺/дм³ на 7-му добу спостерігали зменшення мікроелементу на 19% порівняно з контролем. Накопичення селену ліпідами відбувалося протягом всього дослідження. Внесення в середовище мікроелементу в концентраціях 0,5; 5,0; 10,0 та 20,0 мг/дм³ на 3-тю добу експерименту зумовлювало збільшення вмісту селену в ліпідах щодо контролю на 88, 50, 36 та 30% відповідно. На 7-му добу вміст мікроелементу збільшився на 106% за концентрації 0,5 мг Se⁴⁺/дм³; на 178% – при концентрації 10,0 мг Se⁴⁺/дм³; на 33% – у разі концентрації 20,0 мг Se⁴⁺/дм³ та зменшився на 5% за дії 5,0 мг Se⁴⁺/дм³ порівняно з контрольними значеннями.

Отримані результати показали, що накопичення селену органічними сполуками *Ch. vulgaris* має часову та концентраційну залежність. Включення селену у вуглеводну та протеїнову фракції було нелінійним, а у ліпідну – прямою часовою залежністю та оберненою зростанню концентрації селеніту в середовищі (вміст селену постійно збільшувався протягом усього експерименту, але кількість його за дії 0,5 мг Se⁴⁺/дм³ була більшою, ніж за дії 20,0 мг Se⁴⁺/дм³). Співвідношення вмісту селену у вуглеводах, протеїнах і ліпідах становило 1:1,8:2,2, тому біохімічно виправданим є отримання ліпідселенових субстанцій з хлорели протягом 7 діб вирощування водорості в середовищі з 10,0 мг Se⁴⁺/дм³.

**ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ГЕМОГЛОБІНУ
ЩУРІВ ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНІДУКОВАНИМ ЦУКРОВИМ
ДІАБЕТОМ НА ФОНІ ВВЕДЕННЯ ПРЕПАРАТІВ
Agaricus brasiliensis ТА *Ganoderma lucidum***

ВИТАК Т. Я., ВАСЦЕР С. П., НЕВО Е.

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
Інститут еволюції Хайфського університету, Ізраїль;
e-mail: taras.vitak90@gmail.com*

Основним симптомом цукрового діабету є хронічна гіперглікемія. Зміни, що виникають в еритроцитарній ланці, через підвищення рівня глюкози в крові, проявляються у порушенні внутрішньоклітинного метаболізму та фізико-хімічних властивостях основного протеїну еритроцитів – гемоглобіну. Зміни властивостей гемоглобіну спричиняють порушення оксигенації тканин та розвитку гіпоксичного стану, який супроводжує розвиток цукрового діабету та ускладнює його перебіг. Метою нашої роботи було дослідити вплив введення препаратів медичних грибів *Agaricus brasiliensis* та *Ganoderma lucidum*, які мають гіпоглікемічний ефект, на стан та функціональні властивості гемоглобіну за експериментального цукрового діабету.

Проведено аналіз вмісту загального, глікозильованого та лужностійкого гемоглобіну; методом абсорбційної спектроскопії досліджено лігандні форми гемоглобіну; для оцінки спорідненості гемоглобіну до кисню аналізували криві дисоціації оксигемоглобіну.

За цукрового діабету не було показано змін у вмісті загального гемоглобіну, проте зростав рівень глікозильованого. Дослідження лігандних форм гемоглобіну показало зростання вмісту карбоксигемоглобіну, що безпосередньо залежить від вмісту CO у крові, веде до порушення оксигенації гемоглобіну і гіпоксії. Аналіз спорідненості гемоглобіну до кисню показав зсув кривої дисоціації оксигемоглобіну та зниження парціального тиску O₂, за якого гемоглобін вивільняє 50% зв'язаного кисню (показник P₅₀). Також спостерігали підвищення вмісту лужнотійкого гемоглобіну, що має підвищену спорідненість до кисню.

Введення препаратів медичних грибів шурам із експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) не приводило до змін загального гемоглобіну, проте знижувало концентрацію глікозильованої форми. Це свідчить про нормалізацію процесів метаболізму глюкози та вказує на гіпоглікемічні властивості досліджуваних препаратів. Дослідження лігандних форм гемоглобіну показало, що введення препаратів спричинює зниження вмісту карбоксигемоглобіну. Криві дисоціації оксигемоглобіну за ЕЦД та на фоні введення препарату *A. brasiliensis* та *G. lucidum*, зміщувались в сторону контрольних, а значення показника P₅₀ зростало. Тоді як значення лужнотійкого гемоглобіну щурів не змінювались.

Отримані дані свідчать про відновлення фізико-хімічних та функціональних властивостей гетерогенної системи гемоглобіну щурів із цукровим діабетом за введення препаратів медичних грибів *Agaricus brasiliensis* та *Ganoderma lucidum*.

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ЦИТОХРОМНОЇ ДІЛЯНКИ ДИХАЛЬНОГО ЛАНЦЮГА МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЦЕТАМІНОФЕНІНДУКОВАНОГО ГЕПАТИТУ

ВОЛОЩУК О. М., КОПИЛЬЧУК Г. П.

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Україна;
e-mail: oxbm@mail.ru*

Наслідки токсичного ураження печінки, спричинені впливом метаболітів низки лікарських засобів, часто непередбачувані. Водночас здатність печінки до відновлення функціональної активності при гепатопатологічних станах значною мірою залежить від роботи системи біотрансформації енергії в гепатоцитах. Стан системи енергозабезпечення клітин, у першу чергу, визначається ефективністю роботи дихального ланцюга мітохондрій, при цьому ключову роль відіграє його цитохромна ділянка.

Метою нашої роботи було вивчення цитохромоксидазної активності та вмісту мітохондріальних цитохромів у печінці щурів із ацетамінофеніндукованим гепатитом. Дослідну групу становили щури з гострим ацетамінофеніндукованим гепатитом, контролем слугували інтактні тварини. Результати проведених досліджень показали, що в мітохондріальній фракції печінки щурів із гострим ацетамінофеніндукованим гепатитом спостерігається гальмування цитохромоксидазної активності у 2 рази порівняно з показниками контрольної групи тварин на фоні зниження кількісного вмісту цитохромів *aa*₃. Водночас зареєстровано зниження на 25% кількісного вмісту мітохондріальних цитохромів *b* та *c*. Встановлені нами зміни структурно-функціональної організації цитохромної ділянки дихального ланцюга свідчать про порушення процесу транспорту електронів на термінальній ділянці електронтранспортної системи мітохондрій, наслідком чого може бути пригнічення процесів дихання та ефективності окисного фосфорилування у печінці за токсичного гепатиту. Враховуючи, що мітохондріальні цитохроми є гемовмісними протеїнами, для пояснення факту зниження їх вмісту та гальмування активності цитохромоксидази доцільним було визначення активності гемоксигенази – ключового ензиму розпаду гема в мітохондріях. Результати проведених досліджень показали, що у мітохондріальній фракції печінки дослідних тварин спостерігається підвищення гемоксигеназної активності вдвічі.

Отже, результати досліджень дозволяють зробити висновок, що одним із механізмів порушення функціонування системи біотрансформації енергії за умов гострого ацетамінофеніндукованого гепатиту у мітохондріальній фракції печінки є гальмування цитохромоксидазної активності на тлі зниження вмісту мітохондріальних цитохромів та підвищення гемоксигеназної активності. Результати досліджень можуть використовуватися для біохімічного обґрунтування терапевтичних підходів щодо усунення та корекції наслідків токсичного ушкодження печінки.

ПРОТИГЕРПЕТИЧНА ДІЯ НОВОЇ СПОЛУКИ АЛКОКСИАМІНОПРОПАНОЛУ

¹ВОЛОЩУК О. М., ²КОРОТКИЙ Ю. В., ³РИБАЛКО С. Л.,
¹ШИРОБОКОВ В. П., ²СМЕРТЕНКО О. А.

¹Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця НАМН України, Київ;
e-mail: post-ua@yandex.ru;

²Інститут органічної хімії НАН України, Київ;

³Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського
НАМН України, Київ

Герпес – найбільш розповсюджена вірусна інфекція людини, що характеризується персистуючим перебігом та може спричинювати захворювання центральної нервової системи (енцефаліт, мієліт, енцефаломієліт), очей (кератит, увеїт), слизових оболонок шкіри тощо. На теперішній час відомо кілька десятків антивірусних препаратів (ацикловір, валацикловір, ганцикловір, адеорівір, бонафтон та ін.), які відносяться до різних груп речовин і мають вибіркову здатність пригнічувати ті чи інші стадії складного процесу репродукції вірусу в інфікованій клітині. Але єдиного препарату, достатньо ефективного проти всіх патогенних для людини вірусів немає.

Нами була досліджена біологічна активність нового похідного алкоксиамінопропанолу, а саме 1-(2-метил-3-бутинокси)-3-(2,2,6,6-тетраметил піперидино)-2-пропанол гідрохлориду по відношенню до вірусу герпесу першого антигенного типу – ВПГ-1. Критерієм первинної оцінки антивірусної активності досліджуваних сполук є хіміотерапевтичний індекс (ХТІ), який має бути > 3. ХТІ досліджуваної сполуки визначали за загальноприйнятими методиками в умовах *in vitro*, використовуючи культуру клітин ВНК (перещеплювана культура нирки хом'яка) та вірус звичайного герпесу першого антигенного типу (ВПГ-1), який було отримано із депозитарію Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України.

Внаслідок проведених досліджень встановлено, що 1-(2-метил-3-бутинокси)-3-(2,2,6,6-тетраметил піперидино)-2-пропанол гідрохлорид у концентрації 100 мкг/мл не спричинював цитотоксичну дію в жодному з оброблених нами клітинних моношарів впродовж 72 год експозиції за даними прижиттєвого цитологічного дослідження. Також, досліджувана речовина в концентрації 1,56 мкг/мл пригнічувала репродукцію ВПГ-1. У відповідності до цих даних було обчислено ХТІ 1-(2-метил-3-бутинокси)-3-(2,2,6,6-тетраметил піперидино)-2-пропанол гідрохлориду, який становив 64. Речовини, ХТІ яких дорівнює 16 або вище, вважаються високоактивними.

Таким чином, високий ХТІ досліджуваної сполуки свідчить про те, що вона є ефективним інгібітором репродукції вірусу герпесу і може бути використана як модель для подальшого синтезу активних молекул по відношенню до герпесвірусів.

ЗАЛЕЖНІСТЬ ФАГОЧУТЛИВОСТІ БАКТЕРІЙ У БІОПЛІВЦІ ВІД ХІМІЧНОГО СКЛАДУ МАТРИКСУ

ВОРОБСЬ Є. С., ВОРОНKOBA O. C., ШЕВЧЕНКО Т. Н., ВІННИКОВ А. І.

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

e-mail: elizaveta.vorobey@mail.ru

За сучасними даними близько 80%-ів усіх бактеріальних інфекцій людини пов'язані з утворенням біоплівок і в цьому сенсі найбільш відомими є стафілококи. Біоплівки є мікробними спільнотами, що фіксовані на поверхнях і складаються з бактеріальних клітин і асоційованого з ними захисного позаклітинного матриксу.

Основними структурними компонентами матриксу біоплівки золотистого стафілокока є екзополісахариди, протеїни і ДНК. Головним елементом слугує полісахаридний міжклітинний адгезин PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesin), утворений із залишків полімерного β -1,6-N-ацетилглюкозаміну (PNAG). PNAG/PIA – найважливіший компонент матриксу біоплівки стафілококів. Одним із основних факторів формування бактеріальної біоплівки є протеїн SarA (staphylococcal accessory regulator A) – глобальний регулятор експресії факторів вірулентності *S. aureus*. Важливим компонентом матриксу є протеїн Rbf («regulator of biofilms formation»). Також є інформація про новий поверхневий протеїн *S. aureus* SasG, що бере участь в утворенні біоплівки. Певну роль у процесі плівкоутворення відіграє позаклітинна ДНК. Вона сприяє міцній фіксації нейтральних молекул матриксу.

Захисна функція матриксу полягає у зниженні проникності плівки для діючих агентів, наприклад, антибіотиків та фагів. Для подолання бар'єру фаги використовують полісахариддеполімерази, що підвищує мобільність бактеріофагів під час контакту з полімерною субстанцією. Фаги, за допомогою позаклітинних деполімераз, руйнують значну частину матриксу, щоб зробити уразливими занурені в біоплівки бактерії. Метою роботи було дослідити кількісну складову екзополісахариду та чутливість біоплівки штаму *S. aureus* до фагів.

Відповідно до мети роботи нами було проведено дві серії експериментів із вивчення складових частин матриксу біоплівки штаму *S. aureus* та впливу лікувальних препаратів бактеріофагів на сформовану цим штамом біоплівку. Для вивчення складу компонентів позаклітинного матриксу біоплівок *S. aureus* використовували речовини, що забезпечують специфічну деструкцію різних компонентів матриксу: періодату натрію (для визначення екзополісахаридів), ДНКазу (для визначення позаклітинної ДНК), протеїнази К та трипсину (для визначення протеїнів). Після обробки біоплівки фарбували кристалічним фіолетовим. Вимірювання здійснювали на колориметрі за зміною абсорбції елюйованого барвника. Було виявлено, що при обробці періодатом натрію відбувалося зменшення абсорбції на $53,36 \pm 1,46\%$ у порівнянні з контролем біоплівки без внесення речовини. При обробці ДНКазою абсорбція зменшувалася на $14,72 \pm 1,15\%$, а при обробці протеїназою К та трипсином – на $5,12 \pm 0,87\%$ та $8,48 \pm 1,68\%$ відповідно. Тобто, можна зробити висновок, що основну частину матриксу біоплівки досліджуваного штаму складають екзополісахариди. Також було вивчено вплив на сформовану біоплівку досліджуваного штаму бактеріофагу стафілококового рідкого, піобактеріофагу полівалентного та інтесті-бактеріофагу рідкого. Наявність впливу визначали колориметрично за зміною абсорбції біоплівок. Було виявлено, що у разі внесення бактеріофагу стафілококового рідкого абсорбція утвореної біоплівки зменшувалась на 29,6% через добу взаємодії у порівнянні з контролем без фага. Піобактеріофаг полівалентний призводив до зменшення абсорбції на 30%, а інтесті-бактеріофаг рідкий – на 48,8%.

Наявність впливу препаратів бактеріофагів на біоплівки стафілококів, вірогідно, свідчить про наявність у фагів полісахариддеполімераз, які здатні руйнувати основний компонент матриксу – екзополісахарид, що вказує на доцільність їх використання для терапії інфекційних хвороб, асоційованих зі збудниками, здатними до утворення біоплівок.

СТРУКТУРНІ ТА ХІМІЧНІ ЗМІНИ У ВОЛОСІ ЗА ДІЇ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

ГАВРИЛЯК В. В.

*Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна;
e-mail: havvita@ukr.net*

Волос людини є складною мультикомпонентною структурою, яка зазнає впливу різноманітних чинників. Стреси, захворювання, атмосферні впливи зумовлюють зміни у кератині і можуть призводити до аномалій у структурі волоса. До хімічних факторів, здатних пошкоджувати волокно, належать фарбування, відбілювання та перманент, часте використання яких пошкодує стрижень волоса, що супроводжується морфологічними змінами його поверхні та біохімічного складу. З іншого боку, при розробці нових косметичних продуктів для догляду за волоссям необхідна адекватна оцінка їх ефективності. Метою роботи було дослідження структурних та хімічних змін, що відбуваються у кератині у відповідь на дію оксидативного стресу, спричиненого хімічним обробленням волоса.

В експерименті використовували натуральне нефарбоване волосся (по 5 зразків у кожній групі) із середнім діаметром 70 мкм, яке умовно розділяли на хімічно оброблене та необроблене. Оксидативний стрес моделювали шляхом хімічного оброблення волоса пероксидом водню при рН 9,5 протягом 30, 60, 90 хв. Оцінювали втрату протеїну із стрижня волоса, зміни у співвідношенні його структурних компонентів, вміст розчинного меланіну, а також концентрацію сульфуровмісних сполук та амінокислот тирозину і триптофану.

Встановлено, що оксидативний стрес, спричинений хімічною обробкою, змінював структуру кератину волоса, зокрема зменшувалась кількість матриксних або кератинасоційованих протеїнів, тоді як вміст високомолекулярних протеїнів, пов'язаний із формуванням нових зв'язків у вигляді лантіоніну, вірогідно підвищувався. Характерно, що фракція мікрофібрилярних протеїнів, незалежно від тривалості дії хімічних чинників на волос, вірогідних змін не зазнавала.

Результати досліджень засвідчили, що внаслідок розриву дисульфідних зв'язків у кератині підвищилася елюція протеїну з волоса, збільшилася його розчинність та вміст розчинного меланіну. Унаслідок хімічного стресу, в першу чергу, спостерігалися зміни поверхневого шару волоса – кутикули, які відзначалися збільшенням кількості відшарованих кутикулярних клітин, причому їх максимальна кількість спостерігалася після 90-хвилинної обробки, що на 39% ($P \leq 0,01$) більше порівняно з інтактним волокном. Отримані результати засвідчили наявність тісного від'ємного кореляційного зв'язку між вмістом кутикули у волоссі та ступенем її деламінації при оксидативному стресі ($r = -0,98$). Показано, що в хімічно обробленому волоссі відбуваються зміни в балансі сульфуровмісних сполук, зокрема зменшується концентрація цистину і, відповідно, підвищується вміст цистеїну та сульфгідрильних груп, що вказує на деструкцію дисульфідних зв'язків кератину. Встановлено також зменшення вмісту триптофану (індикатор пошкодження волоса), який залежав прямо пропорційно від тривалості хімічної обробки.

Таким чином, використані біохімічні показники можна розглядати як допоміжні критерії для оцінки пошкодження волоса, а також застосовувати під час тестування нових косметичних продуктів чи фінішних обробок інших волокон, зокрема овець та хутрових звірів.

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ 2-(2-ГІДРОКСИФЕНОКСИ)АЦЕТИЛ-L-ПРОЛІНАТУ НАТРІЮ ЗА УМОВ ГАСТРОПАТІЙ, СПРИЧИНЕНИХ АСПІРИНОМ

¹ГАДІЛІЯ О. П., ¹ФАЛАЛЄЄВА Т. М., ¹ВІРЧЕНКО О. В.,
²КУДРЯВЦЕВ К. В.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

²Московський державний університет ім. М. В. Ломоносова, Росія;

e-mail: alenanatia@mail.ru

Незважаючи на успіхи в гастроентерології, поширеність виразкової хвороби як і раніше не має тенденції до зниження, а ускладнення, що виникають часто загрожують життю хворого і потребують хірургічного втручання. Сучасні експериментальні дослідження спрямовані на пошук поліфункціональних препаратів, що впливають на різні патогенетичні фактори, у разі виразкової хвороби, які мають найменші побічні ефекти.

У наших дослідженнях було встановлено, що низькомолекулярна органічна сполука 2-(2-гідроксифеноксид)ацетил-L-пролінат натрію за умов її профілактичного введення ефективно зменшує ураженість слизової оболонки шлунка (СОШ) щурів, спричинених аспірином. Відомо, що при виразковій хворобі відбуваються зрушення стаціонарного стану пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) у клітинах СОШ. Тому ми дослідили профілактичний вплив низькомолекулярної органічної сполуки на вміст продуктів ПОЛ та активність ензимів антиоксидантного захисту в гомогенаті СОШ за умов розвитку ерозивно-виразкових ушкоджень, спричинених аспірином.

Дослідження проведені на білих нелінійних щурах масою 200–230 г ($n = 30$). Виразково-ерозивного ураження СОШ у щурів досягали за інтрагастрального введення аспірину (ацетилсаліцилова кислота) у дозі 100 мг/кг (ЗАТ «Технолог», Україна). Аспірин розчиняли в 0,2 н НСІ (20 мг/0,5 мл); тварині вагою 200 г вводили 0,5 мл розчину аспірину в НСІ (Альфарус, Україна) (доза 100 мг/кг). Тварини були поділені на 3 групи: 1 – інтактні щури, 2 – щури, яким за 30 хв до введення аспірину вводили фізіологічний розчин (в/о 200 мкл/100 г), 3 – щури, яким за 30 хв до введення аспірину, вводили в/о 1 мг/кг 2-(2-гідроксифеноксид)ацетил-L-пролінату натрію (сполука синтезована в Московському державному університеті ім. М. В. Ломоносова) (200 мкл/100 г). Через 3 год після введення аспірину щурів умертвляли та збирали СОШ у мікропробірки. В гомогенаті СОШ досліджували вміст продуктів ПОЛ (дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів та шиффових основ), а також ензиматичну активність супероксиддисмутази та каталази.

Встановлено, що профілактичне введення досліджуваної сполуки на тлі введення аспірину щурам 2-ої групи зменшувало вміст дієнових кон'югатів у 1,6 раза ($P < 0,05$), ТБК-активних продуктів – у 2,1 раза ($P < 0,01$), шиффових основ – у 1,9 раза ($P < 0,01$). При цьому вміст ТБК-активних продуктів був відновлений до рівня інтактних щурів. Сполука знижувала супероксиддисмутазну активність в 2,28 раза ($P < 0,05$) порівняно з 2 групою. Нормальна активність даного ензиму у разі введення досліджуваної сполуки відновлювалася до рівня інтактних тварин, проте не було виявлено впливу сполуки на каталазну активність.

Отже, отримані результати свідчать про те, що внаслідок профілактичного введення 2-(2-гідроксифеноксид)ацетил-L-пролінату натрію зменшує інтенсивність ПОЛ у СОШ щурів, за введення аспірину, та проявляє антиоксидантну дію посилюючи супероксиддисмутазну систему. Це є одним із механізмів антивиразкової активності досліджуваної сполуки.

МАТРИКСНІ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-2 ТА -9 У ТКАНИНІ РАКУ ШЛУНКА І В СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ: КОРЕЛЯЦІЯ З ПЕРЕБІГОМ ЗАХВОРЮВАННЯ

¹ГАНУСЕВИЧ І. І., ¹ГУМЕНЮК Л. Д., ²ОСИНСЬКИЙ Д. С., ¹КОВЕЛЬСЬКА А. В.,
¹БУБНОВСЬКА Л. М., ¹МАМОНТОВА Л. А., ¹ОСИНСЬКИЙ С. П.

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;

²Київський міський клінічний онкологічний центр МОЗ України;
e-mail: iganus2000@yahoo.com

Матриксні металопротеїнази-2 та -9 (ММП-2 та -9 або желатинази А і В) здійснюють протеоліз позаклітинного матриксу при фізіологічних процесах та патологічних станах, активуються за умов гіпоксії, продукуються пухлинними клітинами (ПК) та клітинами стромы, є фактором мікрооточення ПК, крім того забезпечують їх інвазію та дисемінацію на всіх етапах метастазування. Мета цієї роботи – дослідити кореляції між показниками активності ММП-2 і -9 в пухлині та її гіпоксія-асоційованими показниками; дослідити рівень активності ММП-2 та -9 в сироватці крові пацієнтів до та після оперативного втручання з видалення пухлини; виявити зв'язок показників активності желатиназ у пухлині та сироватці крові із деякими клініко-патологічними характеристиками та тривалістю життя хворих на рак шлунка (РШ).

Досліджено 112 хворих на РШ (75 чоловіків, 37 жінок), які було розподілено за стадіями захворювання наступним чином: 19 – I, 32 – II, 34 – III, 27 – IV стадії. Всі пацієнти були проінформовані та дали згоду на дослідження. Використано методи зимографії в поліакриламідному гелі, ЯМР-спектроскопії, імуногісто- та імуноцитохімічні. У статистичній обробці результатів використані *t*-критерій Стьюдента, кореляційний аналіз, аналіз виживаності за Каплан-Майером.

Виявлені позитивні кореляції між концентраціями активних форм желатиназ та експресією ГФ-1 α , співвідношенням фосфомоноестери/неорганічний фосфор, що характеризує рівень гіпоксії, щільністю мікросудин, кількістю пухлиноасоційованих макрофагів у пухлині (коефіцієнти кореляцій 0,39 \div 0,58; $P < 0,05$). Показники активності ММП-2 позитивно корелюють із стадією захворювання і негативно – із наявністю віддалених метастазів ($P < 0,05$); не визначено достовірних розбіжностей між показниками активності желатиназ у пухлині хворих із категоріями N_0 і N_{1-2} . При цьому, всі обстежені хворі, що не отримували післяопераційної терапії, живуть достовірно довше при значеннях концентрацій активних форм ММП-2 $< 2,0$ і ММП-9 $< 4,5$ мкг/г, ніж у разі ММП-2 $> 2,0$ і ММП-9 $> 4,5$ мкг/г пухлинної тканини ($p = 0,004$ і $p = 0,01$, відповідно). Виявлено, що показники активності желатиназ у сироватці крові в одній групі пацієнтів після операції значно знижуються ($P < 0,05$), а в другій – навпаки, зростають ($P < 0,05$), що може бути наслідком, зокрема, гастректомії. Для першої групи хворих, у сироватці крові яких після видалення первинної пухлини спостерігалось зниження активності желатиназ, виявлено залежність тривалості життя пацієнтів від показників активності як ММП-2, так і ММП-9. Пацієнти, що не отримували післяопераційної терапії, живуть достовірно довше при значеннях концентрацій активних форм ММП-2 $< 0,2$ і ММП-9 $< 0,5$ мкг/мл, ніж при ММП-2 $> 0,2$ і ММП-9 $> 0,5$ мкг/мл сироватки крові ($p = 0,022$ і $p = 0,015$ відповідно).

ММП-2 та -9 активуються за умов гіпоксії в пухлині і є факторами, що впливають на перебіг РШ. Дослідження сироватки крові може бути доцільним для моніторингу активності ММП-2 і -9 в післяопераційний період, коли отримання зразків тканин у хворого неможливе.

ОСОБЕННОСТИ АКТИВАЦИИ И ФАРМАКИНЕТИКИ 5-ФТОРУРАЦИЛА В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ

ГЕНБАЧ И. О., ХОМУТОВ Е. В.

*Донецкий национальный медицинский университет имени Максима Горького, Украина;
e-mail: ivan_genbach@i.ua*

Противоопухолевый препарат 5-фторурацил (5-ФУ) используется в лечении онкологических заболеваний уже более 50 лет. Для данного препарата установлен факт зависимости показателей его эффективности от способа введения. Его эндолимфальная терапия при низкой токсичности и выраженной эффективности не имеет четкого научного обоснования. Однако известно также, что цитотоксическим действием обладает активная форма препарата – 5-фторуридин (5-ФУД), для синтеза которой необходим источник рибозо-1-фосфата. Мы предполагаем, что клетки крови могут активно участвовать в фармакинетике препарата, защищая и частично активируя его. Целью работы было изучение клеточного транспорта и оценка возможных путей активации препарата 5-ФУ в лимфоцитах крови *in vitro*, а также *in vivo* при химиотерапии больных аденокарциномой желудка.

Использовали кровь здоровых добровольцев (N = 5) и больных раком желудка (N = 11), которые получали химиотерапию 5-ФУ. Лимфоциты выделяли центрифугированием на градиенте фиколлурографина. Концентрации всех метаболитов определяли методом ВЭЖХ. В модельных экспериментах *in vitro* из выделенных лимфоцитов приготавливали суспензию, в которую добавляли 5-ФУ и тимидин. Концентрацию всех метаболитов определяли методом ВЭЖХ.

При добавлении 5-ФУ к суспензии лимфоцитов в плазме крови (здоровые добровольцы) концентрация препарата в клетках была в 4 раза выше, чем в плазме уже на 1-й минуте инкубации. В плазме регистрировалось также накопление активной формы препарата – 5-ФУД. При этом, в опыте, где к клеткам помимо 5-ФУ вносили возможный источник рибозы – тимидин (ТД), накопление 5-ФУД происходило значительно быстрее. При сравнении процессов активации 5-ФУ в суспензии функционально активных лимфоцитов и в лизате клеток было обнаружено, что наличие клеточной мембраны замедляет образование 5-фторуридина. Показано, что тимидин, в отличие от 5-ФУ, обладает меньшей проникающей способностью в клетки – его накопление происходит в 2 раза медленнее, причем на протяжении 1,5 часа с момента инкубации концентрация тимидина в плазме превышала таковую в клетках в 4 раза. Накопление 5-ФУ в лимфоцитах было изучено на пациентах, которые получали химиотерапию двумя способами. При эндолимфальном введении, концентрация 5-ФУ в лимфоцитах превышала таковую в плазме в 100 раз уже через 1 час после введения. Максимальный пик концентрации (C = 990 мМ) был зарегистрирован через 1 час. При внутриаартериальной терапии максимальная концентрация (C = 576 мМ) наблюдалась через 2 часа, после чего наступал спад.

Обнаружено активное накопление 5-ФУ в лимфоцитах в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*. Динамика накопления препарата отличается при различных способах введения. Активация 5-ФУ очень зависит в большей степени от источника рибозо-1-фосфата, в нашем случае – тимидина. Активация 5-ФУ лимитируется не его содержанием в клетке и способом введения, а содержанием в клетке тимидина.

**ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНІНУ НА РІВЕНЬ
БАЗАЛЬНОЇ ГЛІКЕМІЇ Й АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ
ГЛІКОЛІЗУ ТА ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ШЛЯХУ ОКИСЛЕННЯ
ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТУ В КРОВІ АЛОКСАНДІАБЕТИЧНИХ ЩУРІВ**

ГЕРУЩІ В., ЯРЕМІЙ І. М., КУШНІР О. Ю.

*Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна;
e-mail: alexcv18@qip.ru*

Мелатонін здійснює в організмі людини контроль циркадіанних і сезонних ритмів, пригнічує клітинну проліферацію, має протипухлинну, антигонадотропну, імуномодулюючу й антиоксидантну дію. Відомо, що зниження продукції мелатоніну може призвести до розвитку гіперглікемії і, навіть, розглядається як один із факторів ризику розвитку цукрового діабету. Метою нашого дослідження було з'ясувати вплив екзогенного мелатоніну на рівень базальної глікемії (БГ) й активності піруваткінази, (ПК), лактатдегідрогенази (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-Ф-ДГ), 6-фосфоглюконатдегідрогенази (6-ФГ-ДГ) та транскетолази (ТК) у крові алоксандіабетичних щурів.

Експерименти проводили на статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 0,18–0,20 кг. Алоксановий діабет, зумовлювали шляхом введення щурам 5%-го розчину алоксану моногідрату в/о в дозі 170 мг/кг маси. Дослідних тварин було розділено на групи: 1) контроль (інтактний); 2) щури з явним цукровим діабетом (ЦД), (БГ \geq 8,0 ммоль/л); 3) щури з явним ЦД, яким з 5-ої доби після введення алоксану впродовж 14-ти днів щоденно о 8⁰⁰ внутрішньошлунково вводили мелатонін (Sigma, США) з розрахунку 10 мг/кг маси; 4) щури з латентним ЦД (БГ \leq 6,9 ммоль/л); 5) щури з латентним ЦД, яким аналогічно вводили мелатонін. Тварин забивали шляхом декапітації на 15-ту добу від початку експерименту у відповідності до етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2000). Рівень БГ та активності ензимів у крові визначали за стандартними методиками. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за Стьюдентом.

Отримані результати показали, що щоденне 2-х тижневе введення щурам з ЦД вказаної дози мелатоніну нормалізувало рівень БГ у групі тварин із латентним перебігом ЦД і на 35% знизило рівень БГ у щурів із явним ЦД. У групі щурів із явним ЦД знизилась активність ЛДГ (на 21%) та зросли активності ПК, Г-6-Ф-ДГ, 6-ФГ-ДГ і ТК відповідно на 18, 19, 15 і 18% при порівнянні з показниками щурів із явним ЦД, які не отримували жодних засобів корекції метаболічних порушень. У групі щурів із латентним перебігом ЦД, які впродовж 2-тижнів щоденно отримували мелатонін, активність всіх досліджуваних ензимів крові не відрізнялася вірогідно від показників контрольної групи тварин.

Екзогенний мелатонін знижує рівень базальної глікемії, нормалізує активності ензимів гліколізу і пентозофосфатного шляху окислення глюкозо-6-фосфату в крові щурів із алоксановим цукровим діабетом.

ПОРУШЕННЯ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ В МІТОХОНДРІЯХ СЕРЦЯ ЩУРІВ ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ НА ТЛІ ДЕФІЦИТУ ЕСТРОГЕНІВ

*ГОРБЕНКО Н. І., БОРІКОВ О. Ю., ІВАНОВА О. В.,
ТАРАН К. В., ЗВЯГІНА Т. С., КІПРИЧ Т. В.*

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського
НАМН України», Харків;
e-mail: gorbenkonat@mail.ru*

Метаболічний синдром є важливою медико-соціальною проблемою сучасності, що зумовлена широкою розповсюдженістю захворювання та надзвичайно високою летальністю. Дефіцит естрогенів, який виникає у жінок після менопаузи, розглядають як додатковий чинник кардіометаболічного ризику, підтвердженням чого є впровадження спеціального терміну «постменопаузальний метаболічний синдром». Нещодавно було показано, що наявність рецепторів до естрогенів в мітохондріях кардіоміоцитів відіграє важливу роль в регулюванні гормоном мітохондріальної функції та продукції вільних радикалів. Взаємодіючи з рецепторами в мітохондріях, естрогени підвищують продукцію АТР і знижують оксидативний стрес та апоптоз у кардіоміоцитах, що може сприяти профілактиці серцево-судинних захворювань та збільшенню тривалості життя жінок. Метою даної роботи було дослідження про-/антиоксидантного балансу мітохондрій серця щурів із метаболічним синдромом на тлі гіпоестрогенії. Дослідження проведено на 30 3-місячних самицях щурів лінії Вістар, яких утримували в стандартних умовах віварію. Гіпоестрогенію відтворювали шляхом двосторонньої оварієктомії під легким ефірним наркозом. Метаболічний синдром індукували через 2 тижні після хірургічного втручання за допомогою вільного доступу тварин до фруктози (в концентрації 200 г/л) з питною водою протягом двох місяців. Експериментальні тварини були розподілені на 3 групи: контрольні (К), оварієктомовані (О) та оварієктомовані із метаболічним синдромом (О+МС). Мітохондрії були виділені із серця методом диференційного центрифугування. Оксидантний статус мітохондрій визначали за вмістом ТБК-активних продуктів, відновленого глутатіону, активності Mn-залежної супероксиддисмутази (Mn-SOD) та глутатіонпероксидази.

Встановлено, що дефіцит естрогенів призводить до посилення пероксидного окислення ліпідів, про що свідчило підвищення рівня ТБК-активних продуктів у мітохондріях серця щурів майже вдвічі у порівнянні з інтактним контролем ($P < 0,05$). Зростання продукції вільних радикалів супроводжувалося зниженням активності антиоксидантних ферментів Mn-SOD (О: $29,75 \pm 1,46$ у.од./мг протеїну vs К: $44,90 \pm 1,17$ у.од./мг протеїну, $P < 0,05$) та глутатіонпероксидази на (О: $12,41 \pm 1,55$ нмоль/(хв·мг протеїну) vs К: $21,68 \pm 1,56$ нмоль/(хв·мг протеїну), $P < 0,05$), що підтверджує роль дефіциту естрогенів у порушенні про-/антиоксидантного балансу внаслідок зниженої експресії вищезазначених ферментів. У той же час, вміст відновленого глутатіону залишався на рівні контрольної групи ($P > 0,05$). Поєднання гіпоестрогенії з метаболічним синдромом призводило до подальшого посилення оксидативного стресу за рахунок підвищення ТБК-активних продуктів ($P < 0,05$), зниження активності Mn-SOD ($P < 0,05$) та вмісту відновленого глутатіону (О+МС: $2,49 \pm 0,28$ нмоль/мг протеїну vs О: $4,78 \pm 0,51$ нмоль/мг протеїну, $P < 0,05$) у порівнянні з оварієктомованими тваринами, які знаходилися на стандартній дієті. Отримані результати свідчать про адитивність індукуючого впливу дефіциту естрогенів та метаболічного синдрому щодо розвитку оксидативного стресу в мітохондріях серця самиць щурів.

Таким чином, метаболічний синдром на тлі гіпоестрогенії призводить до порушення про-/антиоксидантного балансу за рахунок підвищення продукції пероксидного окислення ліпідів та зниження активності супероксиддисмутази і глутатіонзалежної ланки антиоксидантного захисту.

КОРЕКЦІЯ ПОСТПРАНДІАЛЬНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ ВОДНИМИ ЕКСТРАКТАМИ ЯКОНА

¹ГОРБУЛІНСЬКА О. В., ¹ХОХЛА М. Р., ²МІЩЕНКО Л. Т.

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

e-mail: khmarija@gmail.com

Цінною рослинною сировиною для створення нових лікарських засобів є якон (*Smallanthus sonchifolius* Poerr. & Endl., син. *Polymnia sonchifolia*), однією з найцінніших властивостей якого є його гіпоглікемічна дія, що притаманна, як надземній так і кореневій частині рослини. Фітохімічними дослідженнями було показано, що листя та стебла якона містять значну кількість протеїнів та фенольних сполук, таких як кофеїн, хлорогенова і ферулова кислоти та флавоноїди. Кореневі бульби якона в основному містять сахариди, переважаючи частину з яких складають фруктоолігосахариди. Метою нашої роботи було вивчення біологічного ефекту водних екстрактів кореневої та надземної частин якона для з'ясування, яка частина цієї рослини має найвираженішу цукрознижувальну дію.

Для дослідження використовували надземну частину (листки, черешки, стебла) та кореневу (кореневі бульби та шкірки корневих бульб) з яких виготовляли водні екстракти. Окремі частини рослини екстрагували у воді в співвідношенні 1 : 10 (100 °С, 15 хв). Одержані екстракти настоювали (45 хв, 20 °С) та фільтрували, потім упарювали в вакуумі при 60–65 °С. Для досліджень використовували водний розчин випарених екстрактів якона, який вводили тваринам *per os* у дозі 0,07 г/кг маси тіла тварини. Досліди проводили на безпородних щурах-самцях вагою 130–180 г. Глюкозотолерантний тест проводили вранці після 18-годинного голодування. Навантаження глюкозою проводили тваринам, які були поділені на групи: 1) контроль (пероральне введення розчину глюкози (1 г/кг)), 2) контроль + введення водного екстракту листків якона, 3) контроль + введення водного екстракту черешків якона, 4) контроль + введення водного екстракту стебел якона, 5) контроль + введення водного екстракту корневих бульб якона, 6) контроль + введення водного екстракту шкірок корневих бульб якона. До та після глюкозного навантаження у щурів брали кров на аналіз (протягом 60 хв з інтервалом 10 хв), визначали рівень глюкози глюкозооксидазним методом. Результати досліджень водних екстрактів якона показали, що під впливом одноразового введення екстрактів листків, черешків та стебел спостерігалася тенденція до зниження рівня глюкози (20 хв), після глюкозного навантаження відповідно на 40, 64 та 37% (у порівнянні з контрольною групою). У разі застосування екстракту листків та стебел якона рівень глюкози нормалізувався через 1 годину з моменту глюкозного навантаження, що було характерно і для контрольних тварин. А у випадку введення екстракту черешків відбувався зсув піку концентрації глюкози з 20-ї на 60-ту хв і пік був не таким вираженим, як на 20-ту хв у контрольних тварин. Введення екстрактів корневих бульб знижувало рівень глюкози на 45,8% (20 хв), порівняно з контрольною групою. Екстракт шкірок корневих бульб знижував глікемічний пік (20 хв) на 42,3% щодо контролю.

Усі досліджувані частини рослини зумовлювали гіпоглікемічний ефект у щурів. Встановлено, що найвираженішу цукрознижувальну дію мають водні екстракти листків і корневих бульб якона. Зниження рівня постпрандіальної глікемії у разі застосування досліджуваних екстрактів може бути зумовлене підвищенням толерантності до глюкози у зв'язку із повільнішим її всмоктуванням із шлунково-кишкового тракту, що веде до більш рівномірного навантаження на інсулярний апарат протягом усього процесу травлення.

INVESTIGATION OF BEHAVIOR OF POLYURETHANE COMPOSITES AS DRUG CARRIERS

GRIGORIEVA M. V.

*Palladian Institute of Biochemistry of the National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv
e-mail: mayagrigorieva@gmail.com*

Biodegradable and biocompatible polyurethanes (PUs) are a good basis for developing polymeric composites – in fact macromolecular therapeutic systems – with controlled physicochemical properties, allowing a developer to vary the drug immobilization level. Such systems, ensuring a locally effective concentration, may be used in a form of films or foams in surgery, gynecology, urology, etc. Due to the higher structural heterogeneity and contact area of drug-filled PU composites vs. non-filled ones, the former are known to degrade much faster both *in vitro* and *in vivo*. An increase in the wetting ability of a PU matrix, resulting from its modification with drug, also has a significant effect on the polymeric destruction progress and the pattern of drug release from a PU depot form. In a drug depot form, used for the controlled drug delivery to a target organ, the synthetic polymeric matrix seems to perform a “minor” function, because the major effect belongs to the drug as a biologically active substance. Nonetheless, there are very severe requirements set for matrices, which often are difficult to meet.

The present work focuses on step four of the above for a few depot systems based on different PU composites, highlighting the relation between drug release types and PU matrix degradation behavior, the effect of the matrix mechanical properties, and the dependence of drug release kinetics on the matrix structure and properties as well as the nature of drug immobilization.

A PU matrix for cefazolin, an antibiotic, was synthesized from Laprol-1600 (a mixture of polyoxyethylene and polyoxypropylene glycols, Mw 1.600) and toluylene diisocyanate T65/35 (TDI, a mixture of 2.4 and 2.6 isomers at a mass percentage ratio of 65 to 35), either in presence or in absence of a catalyst, iron tris-acetylacetonate (Fe(acac)₃). Biocompatible oligoetherurethane diisocyanate based on a mixture of oligoglycols (Laprol), Mw 1.002 and 2.002 Da at a mass proportion of 1:1, and TDI T80/20 (a mixture of 2.4 and 2.6 isomers at a mass percentage ratio of 80 to 20) was used as a polymeric matrix for naltrexone, an antagonist, in a study that included both *in vitro* and *in vivo* experiments. Hydrophilic composites were made by adding poly-N-vinylpyrrolidone (PVP), Mw 12.600 ± 2.700, and the antagonist (at 10 percent and 1 percent, respectively, of the prepolymer mass) to the polymeric matrix. A PU for piroxicam (Px), the non-steroidal anti-inflammatory drug, was synthesized through reaction of oligoglycol (Mw 2.002) with toluylene diisocyanate (TDI, a mixture of 2.4 and 2.6 isomers, 80:20). Sponge-like composites of PU with Px were produced by adding at 3 percent by weight.

The PU composites with cefazolin, naltrexone and piroxicam, all based on cross-linked polymers (Laprols between 1.500 and 2.000 Da and TDI), demonstrated more or less the same pattern of drug release, which lasted for about 10 days *in vitro* and three to five days *in vivo*, although their preparation procedures, swelling degrees and mechanical properties differed. In contrast, the composites with dioxydine based on a linear polymer (oligotetramethylene glycol, Mw 1.000 Da, diphenylmethane-4,4'-diisocyanate and 1,4-butanediol) performed much better both *in vitro* and *in vivo*, releasing dioxydine into the model medium for about a month and retaining their antimicrobial activity after 30 days of implantation, respectively. The dioxydine/PU composites also showed quite a high breaking strength – 12.5 MPa – which was about 20 times higher than that of the Laprols-based composites.

By varying the combination of hard and soft segments, one can design the PU matrix structure to meet specific therapeutic application needs and program drug release pattern. They also showed a significantly higher breaking strength as compared to that of the composites based on cross-linked polyurethanes.

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ И СЕРДЦА КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА

ДАВЫДОВ В. В., ВОЛКОВА Ю. В., СУХОВА Л. Л., БЕРЕЖНАЯ Е. А.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков
НАМН Украины», Харьков;
e-mail: vaddavydov@mail.ru*

В подростковом возрасте повышаются заболевания, связанные с внутренней патологией. Принимая во внимание важную роль стресса, как ее этиологического фактора, можно предположить, что одной из важных причин этого возрастного феномена является понижение устойчивости организма к негативному действию стрессоров на этапе полового созревания. В настоящее время существует большое количество сведений о стимуляции свободнорадикальных процессов при стрессе, а также сопровождающем ее накоплении цитотоксических карбонильных продуктов обмена. Важную роль в защите от них играют альдегиддегидрогеназы (К.Ф. 1.2.1.3 и 1.2.1.4). Вместе с тем, все еще отсутствуют представления об участии этих энзимов в антистрессорной защите, а также их значении в возрастном повышении чувствительности внутренних органов к повреждающему действию стресса. Учитывая это, целью исследования стало изучение особенностей модуляции альдегиддегидрогеназной активности в субклеточных фракциях печени и сердца крыс разного возраста с продолжительным иммобилизационным стрессом.

Работа выполнена на крысах самцах линии Вистар 1,5-месячного (ранний пубертат), 2-месячного (поздний пубертат) и 12-месячного возраста (взрослые половозрелые). Животных каждой возрастной группы делили на 2 подгруппы: 1 – интактные и 2 – крысы с иммобилизационным стрессом. В митохондриальной и постмитохондриальной фракции печени и сердца определяли альдегиддегидрогеназную активность (АДГ) с использованием глутарового альдегида в качестве субстрата.

Исследования показали, что альдегиддегидрогеназная активность постмитохондриальной фракции печени крыс пубертатного возраста в условиях продолжительной иммобилизации не изменяется. В митохондриальной фракции печени у 2-месячных иммобилизованных животных она существенно понижается, а у 1,5-месячных – остается на исходном уровне. В постмитохондриальной фракции сердца 2-месячных иммобилизованных крыс происходит понижение АДГ активности, а в митохондриальной фракции миокарда у 1,5- и 2-месячных иммобилизованных животных она поддерживается на исходном уровне.

Результаты проведенных исследований позволяют сделать заключение о том, что формирование иммобилизационного стресса у взрослых половозрелых животных не сопровождается модуляцией АДГ активности в субклеточных фракциях печени и сердца. В то же время у крыс пубертатного возраста при стрессе возникают тканеспецифические сдвиги в активности альдегиддегидрогеназ митохондриальной и постмитохондриальной фракций. При этом высокая лабильность по отношению к факторам, возникающим в клетках в условиях продолжительной иммобилизации, характерна для альдегиддегидрогеназ митохондриальной фракции печени и постмитохондриальной фракции сердца. Причины того могут быть связаны с различиями в изоэнзимном спектре альдегиддегидрогеназ в гепатоцитах и кардиомиоцитах. Учитывая особую роль митохондриальных альдегиддегидрогеназ в защите клеток от цитотоксического действия эндогенных альдегидов, можно думать, что понижение альдегиддегидрогеназной активности митохондрий вносит определенный вклад в повышение чувствительности печени к действию повреждающих факторов стресса в пубертатном возрасте.

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ ТА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ НИРОК ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

ДАВИДОВА Н. В., ГРИГОР'ЄВА Н. П.

*Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна;
e-mail: davydova.nataliia@bsmu.edu.ua*

Алкоголізм є однією з актуальних проблем сучасності, що виходить за межі медицини і несе загрозу для безпеки як окремої особи, так і суспільства загалом. Етанол вражає всі органи та тканини організму, ускладнює перебіг багатьох супутніх захворювань. Численними лабораторними та клінічними дослідженнями було встановлено, що в основі токсичного впливу етанолу на організм лежить активація процесів вільнорадикального окислення біомолекул. Інтенсивність цього процесу в тканинах значною мірою залежить від активності ензимів антиоксидантного захисту, ключовими серед яких вважають каталазу та супероксиддисмутазу (СОД). Метою цієї роботи було встановити вплив мелатоніну на активність каталази та СОД нирок щурів за умов підгострої алкогольної інтоксикації.

Досліди проводили на 30 білих щурах-самцях масою 180–230 г, яких утримували за стандартних умов віварію. Тварин розподілено на групи: 1 група – контроль (інтактні тварини); 2 група – тварини з підгострою алкогольною інтоксикацією (внутрішньошлункове введення 40%-го етанолу в дозі 7 мл/кг маси впродовж 7 діб); 3 група – тварини, яким впродовж моделювання алкогольної інтоксикації внутрішньошлунково вводили препарат «Віта мелатонін» (Київський вітамінний завод) у дозі 5 мг/кг маси. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом. У супернатантах 5%-х гомогенатів нирок щурів визначали активність каталази (Королук М. А. та ін., 1988) та супероксиддисмутазу (Дубинина Е. Е., 1983).

Нами встановлено, що підгостра алкогольна інтоксикація супроводжувалась зниженням активності СОД у нирках щурів на 38% нижче рівня контролю. Про виснаження антиоксидантного резерву щурів свідчило й зниження активності каталази яка була на 51% нижче контролю. Відомо, що дані ензими є адаптивними. Нами показано, що інтоксикація тварин етанолом протягом 7 діб пригнічує в нирках активність досліджуваних ензимів антиоксидантного захисту, що супроводжується активацією процесів вільнорадикального окислення. Мелатонін – один з найпотужніших ендогенних антиоксидантів, присутній в усіх клітинних структурах, включаючи ядро, ефективність якого доведена для багатьох вільнорадикальних патологій. Встановлено, що введення препарату «Віта-мелатонін» у дозі 5 мг/кг впродовж 7 діб поряд із алкогольною інтоксикацією запобігало вірогідній зміні активності СОД у нирках щурів. Активність каталази залишалась нижче рівня контролю на 24%. Отримані результати можуть бути пов'язані як з тим, що мелатонін зв'язує супероксидний радикал, так і активує синтез антиоксидантних ензимів.

Отже, підгостра алкогольна інтоксикація супроводжувалась пригніченням активності каталази та СОД у нирках щурів. Введення мелатоніну на тлі інтоксикації етанолом сприяло нормалізації активності антиоксидантних ензимів. Отримані дані свідчать про потужні антиоксидантні властивості мелатоніну та здатність його попереджати токсичний вплив етанолу на клітини організму.

ОСОБЛИВОСТІ ЖОВЧОУТВОРЕННЯ У ЩУРІВ ПРИ НАВАНТАЖЕННІ ЇХ ОРГАНІЗМУ ТАУРИНОМ

ДАНЧЕНКО Н. М., БАБАН В. М., ВЕСЕЛЬСЬКИЙ С. П., ЦУДЗЕВИЧ Б. О.

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

У складі печінкового секрету більшості тварин та людини знайдено кон'югати таурину з жовчаними кислотами. Таурин може брати певну участь в регуляції про-/антиоксидантної рівноваги і бути лімітуючим фактором перебігу метаболічних процесів, що забезпечують жовчоутворення в печінці тварин та людини. Тому метою роботи було з'ясування впливу низьких доз таурину на жовчовидільну функцію та ефективність процесів кон'югації і гідроксилювання в тканинах печінки щурів.

Досліди проводили на білих щурах-самцях, які перед дослідом були позбавлені їжі з вільним доступом до води. Щурам дослідних груп вводили таурин у дозі 3 мг на 100 г маси тіла тварини одноразово й курсом (трьохкратно впродовж трьох днів). Зібрану жовч аналізували на вміст вільних та кон'югованих жовчних кислот за допомогою тонкошарової хроматографії.

За однакової швидкості секреції жовчі в контрольній і дослідних групах щурів, встановлено суттєві відмінності її жовчнокислотного складу залежно від режиму навантаження таурином. У піддослідних щурів спостерігалось посилення секреції печінкою із жовчю таурокон'югатів жовчних кислот (ЖК) порівняно з контролем. Так, рівень секреції таурохолевої кислоти збільшувався майже однаково, на 53,3–53,8% ($P \leq 0,05$) як при одноразовому, так і при курсовому введенні таурину. Ефективність біосинтезу тауродигідроксихоланових кислот у печінці піддослідних щурів суттєво відрізнялась за різних режимів навантаження таурином. Під час одноразового введення таурину рівень секреції суміші тауроходезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот зростав лише на 37,9% ($P \leq 0,05$), а у разі введення курсом – на 57,3% ($P \leq 0,05$). Рівень секреції глікохолевої та суміші глікоходезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот за одноразового введення таурину порівняно з контролем вірогідно не змінювався. Водночас трикратне введення таурину піддослідним щурам знижувало ефективність роботи поліензимних систем у гепатоцитах, що забезпечують кон'югацію ЖК із гліцином. Про це свідчило зниження на 61,4% ($P \leq 0,01$) секреції суміші глікоходезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот у жовчі піддослідних щурів. Вільні ЖК, такі як холева, хенодезоксихолева та дезоксихолева, за введення таурину (курсом) визначались у слідових кількостях. Це в певній мірі може бути наслідком підвищеного їх використання в процесах кон'югації з таурином. Аналіз змін коефіцієнтів кон'югації та гідроксилювання ЖК при навантаженні організму щурів таурином вказує на суттєві перебудови процесів жовчоутворення в печінці тварин. Значна інтенсифікація роботи поліензимних систем, які забезпечують кон'югацію ЖК з таурином, певною мірою гальмувало кон'югацію цих кислот з гліцином, що наочно виявилось в разі тривалого навантаження організму тварин цим препаратом.

Отже, таурин бере активну участь у регуляції широкого спектра фізіологічних та біохімічних процесів, пов'язаних із відтворенням печінкою жовчосекреторної функції. Навантаження організму щурів дослідженою дозою таурину зумовило суттєві зміни співвідношення гліко- і тауропохідних ЖК та, частково, коефіцієнта гідроксилювання, що є наслідком змін в інших ланках метаболізму. Такий комплексний вплив таурину на процеси жовчоутворення відкриває напрямок у використанні інших субстратів для оптимізації колоїдостійкості жовчі тварин та людини.

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ
МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО
ВИПРОМІНЮВАННЯ ТА ЕФЕКТ СПОЖИВАННЯ
ПОЛІФЕНОЛІВ ВИНОГРАДНОГО ВИНА**

ДАЦЮК У. В., ДАЦЮК Л. О.

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: datsyukulyana@gmail.com*

Основним фактором пошкодження клітинних мембран за дії малих доз іонізуючих випромінювань є активація вільнорадикальних реакцій, зумовлених посиленою генерацією активних форм кисню. Поліфенольні сполуки, як потужні антиоксиданти, здатні запобігати вільнорадикальному пероксидному окисленню ліпідів плазматичних мембран безпосередньо взаємодіючи з активними формами кисню або ж вбудовуючись у ліпідний бішар мембран. Метою роботи було дослідити ефект природного поліфенольного комплексу виноградного вина «Каберне-Совіньон» на структурно-функціональний стан мембран еритроцитів щурів за дії фракційного рентгенівського опромінення щодобовою дозою 1 сГр на 10-, 20- та 30-ту доби та одноразового 30 сГр на 24-, 48- та 72-у год після радіаційного впливу.

Структурно-функціональний стан еритроцитів досліджували методом кислотних еритрограм, альціаніндукованої агрегації клітин та визначенням вмісту мембранозв'язаних сіалових кислот. Експерименти проводили на безпородних білих щурах, масою 180–220 г ($n = 72$). Піддослідні тварини були поділені на 4 групи: I – контрольна, II – тварини за 10 діб до початку та впродовж експериментів з питною водою споживали вино (300 мл/70 кг маси тіла за добу), III – опромінені тварини, IV – опромінені тварини, що споживали вино аналогічно тварини II групи.

Встановлено, що споживання з питною водою вина за 10 діб до радіаційного впливу та впродовж експериментів зумовлювало підвищення кислотної резистентності еритроцитів порівняно з контролем. За фракційного опромінення на 10- та 20-ту доби експерименту виявлено зниження стійкості еритроцитів до дії кислотного гемолітика, тоді як за опромінення та споживання вина – підвищення цього показника у порівнянні до контролю. На 30-ту добу дослідження кислотна резистентність еритроцитів у трьох досліджуваних групах перевищувала контрольні значення. За споживання вина та опромінення в дозі 30 сГр на 48-му год встановлено зростання вмісту клітин із підвищеною стійкістю до дії гемолітика на противагу зниженню кислотної резистентності еритроцитів при опроміненні та нормалізацію показника через 72 год. Крім того за радіаційного впливу показано зростання резистентності еритроцитів, що, очевидно, пов'язано з елімінацією з руслу крові клітин зі значними ушкодженнями плазматичних мембран.

Методом альціаніндукованої агрегації еритроцитів показано, що фракційне іонізуюче опромінення на всіх термінах експерименту (особливо на 30-ту добу), призводить до зменшення максимального розміру агрегату, зниження ступеня та швидкості агрегації, а також до збільшення часу початку агрегації, що спричинено зниженням негативного поверхневого заряду клітин через десіалювання вуглеводних детермінант глікофоринів мембрани. У той же час досліджувані показники опромінення на фоні споживання вина суттєво не відрізнялись від контрольних. Виявлено вірогідне зниження вмісту мембранозв'язаних сіалових кислот еритроцитів щурів за фракційного рентгенівського опромінення на 10-ту добу та одноразового опромінення на 48-му год експерименту при збереженні їх вмісту на рівні контрольних показників за споживання поліфенольних сполук виноградного вина.

Таким чином встановлено, що поліфенольні сполуки виноградного вина мають здатність запобігати радіоіндукованим змінам плазматичних мембран еритроцитів шляхом зниження вільнорадикального окислення ліпідів та сповільнення процесів десіалізації клітин за дії малих доз іонізуючого випромінювання.

ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ПЕЧІНКИ В УМОВАХ ТРИВАЛОЇ ШЛУНКОВОЇ ГІПОХЛОРГІДРІЇ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ МУЛЬТИКОМПОНЕНТНОГО ПРОБІОТИКА

ДВОРЩЕНКО К. О., БЕРНИК О. О.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: k21037@gmail.com*

Значну кількість патологічних станів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) супроводжує знижена кислотність шлункового соку, яка може призвести до розладів травлення, розвитку дисбіозів та до запальних процесів у органах травної системи, зокрема в печінці. Для відновлення гомеостазу у ШКТ доцільним є використання пробіотиків, які мають широкий спектр біологічної активності. Інформативним показником ступеня запалення як у цілому організмі, так і у певному органі є цитокіновий профіль, оскільки співвідношення про- і протизапальних цитокінів відображає інтенсивність альтераційно-деструктивних та регенераторно-відновлювальних процесів, їх динаміку та прогресування захворювання. Тому метою роботи було визначити цитокіновий статус печінки в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії та при введенні мультипробіотика «Симбітер[®] ацидофільний» концентрований («Симбітер[®]»).

Досліди проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях. У першій групі тварин гіпоацидний стан моделювали введенням 14 мг/кг омепразолу (в/ч) один раз на добу протягом 28 діб. Щурам другої групи одночасно з введенням омепразолу (п/о) вводили мультипробіотик «Симбітер[®]» у дозі 0,14 мл/кг. Контрольним щурам протягом 28 діб вводили в/ч 0,2 мл та п/о 0,5 мл води для ін'єкцій. Вміст інтерлейкінів (ІЛ), інтерферону- γ (ІНТ- γ) та фактору некрозу пухлин α (ФНП- α) визначали у гомогенаті печінки за допомогою імунохемилюмінесцентного аналізу. Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Встановлено, що в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії у печінці зростає рівень наступних цитокінів: ІЛ-1 α – в 4,7; ІЛ-1 β – 1,6; ІЛ-4 – в 1,3; ІЛ-6 – в 8,1; ІЛ-8 – в 16,1; ІНТ- γ – в 1,5 та ФНП- α – в 1,3 раза відносно контролю. За отриманих результатів ІЛ-10 знижується в 6,1 раза порівняно з контрольною групою. При введенні мультипробіотика «Симбітер[®]» щурам з тривалою шлунковою гіпохлоргідрією в печінці зростає рівень ІЛ-4 та ІЛ-10, відповідно у 2,1 та 2,7 раза, при цьому знижується вміст ІЛ-1 α – в 1,4; ІЛ-6 – в 1,5 та ІЛ-8 – в 3,2 раза відносно групи щурів з гіпоацидним станом шлунка. Вміст ІЛ-1 β , ІФ- γ та ФНП- α залишається на рівні значень групи щурів, яким вводили омепразол.

Таким чином, на фоні пригнічення кислотопродукуючої функції шлунка у печінці щурів розвивається запалення, про що свідчить превалювання вмісту медіаторів запалення (ІЛ-1 α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІФ- γ та ФНП- α) над протизапальними цитокінами (ІЛ-4, ІЛ-10). Введення мультипробіотика «Симбітер[®]» сприяє зниженню запалення у печінці за рахунок вираженої протизапальної дії досліджуваного препарату, яка реалізується шляхом відновлення мікрофлори ШКТ, що знижує дисбіотичні явища в травній системі.

ВПЛИВ ОЛІЙ З НАСІННЯ ЛЬОНУ ТА РОЗТОРОПШІ, ОТРИМАНИХ РІЗНИМИ МЕТОДАМИ ВІДЖИМУ, НА СТАН ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛІТУ

¹ДЕНІС Є. О., ¹КОТЛЯР І. П., ²МОСКАЛЕЦЬ Т. З.,

¹КУЗНЄЦОВА Г. М., ¹РИБАЛЬЧЕНКО В. К.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

²Білоцерківський національний аграрний університет, Україна;

e-mail: deniseugen@ukr.net;

Хімічний склад олій з насіння льону та розторопші дозволяє розглядати їх як перспективні лікувально-профілактичні засоби, що сприяють швидкому одужанню при запальних та виразкових захворюваннях травного тракту. Основні діючі компоненти цих олій (α -ліноленова кислота у олії льону і суміш флавонолігнанів силімарин у олії розторопші) швидко окислюються за підвищеної температури віджиму та втрачають корисні властивості, а іноді можуть набувати шкідливих. Метою роботи було порівняння впливу олій з насіння льону і розторопші, отриманих методами холодного та гарячого віджиму, на слизову оболонку товстої кишки за гострого коліту.

Дослідження проводили на білих лабораторних щурах-самицях масою 200–230 г. Коліт моделювали 1-разовим ректальним введенням 0,5 мл 10% оцтової кислоти, тваринам із контрольних груп вводили 0,5 мл фізіологічного розчину (негативний контроль). Тварини утримувались на стандартному харчовому раціоні, на 10% збагаченому оліями: з насіння льону холодного (при 42–45 °С) (ЛХ) та гарячого (при 90 °С) (ЛГ) віджиму; з насіння розторопші холодного (РХ) та гарячого (РГ) віджиму, протягом 2 тижнів до індукції коліту та впродовж його розвитку. Групи позитивного контролю (коліт без терапевтичного впливу) утримувались на стандартному раціоні, на 10% збагаченому соняшниковою рафінованою олією (СО), та на стандартному раціоні (К). Групи негативного контролю утримувались на відповідних раціонах упродовж такого ж терміну. На 3-ю добу після індукції коліту щурів забивали, оцінювали рівень ушкодження слизової оболонки товстої кишки за 10-бальною шкалою (0 – відсутність видимих патологічних змін, 10 – некротичне ураження, що охоплює більше 5 см довжини кишки), визначали активності АЛТ та АСТ, рівень білірубіну та креатиніну у сироватці крові.

При гострому коліті ступінь ураження кишки відповідав $7,3 \pm 1,3$ балам, активність АЛТ зростала на 25%, прямий білірубін – на 35%, що свідчить про виражений патологічний процес. У тварин групи СО ураження кишки відповідало $6,7 \pm 2,4$ балам. ЛХ та ЛГ зменшували ураження кишки до ≈ 2 -х балів та сприяли нормалізації біохімічних показників. Захисна дія РГ була більш вираженою – мало місце слабе запалення слизової оболонки товстої кишки (1 бал), біохімічні показники вірогідно не відрізнялись від показників здорових тварин. Натомість РХ не впливала на колітасоційоване пошкодження слизової оболонки кишки (до 7 ± 1 балів), що можна пояснити відмінностями хімічного складу РХ та РГ, отриманих за різними технологіями.

Отже, льняна олія, незалежно від технології отримання, є протектором при гострому коліті в умовах лікувально-профілактичного застосування. Натомість застосування олії з насіння розторопші, отриманої за різними технологіями, має суттєво відмінні ефекти та потребує подальшого вивчення.

**EXPRESSION OF *GAST* AND *CHGA* GENES IN RAT
DUODENAL EPITHELIAL CELLS UPON LONG-TERM HYPOACIDITY
AND WITH ADMINISTRATION OF MULTIPROBIOTIC**

*DRANITSINA A. S., DVORSHCHENKO K. O., SAVKO U. V.,
MORGAIENKO O. O.*

*Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;
e-mail: alevtina.dranitsina@gmail.com*

Colonization of gastrointestinal tract (GIT) by opportunistic microbiota as a result of long-term gastric hypoacidity forms stable sources of endogenous infection and besides the effect of hypergastrinemia additionally promotes tumorigenesis in different parts of GIT. The level of *Gast* (gastrin) and *Chga* (chromogranin A) genes expression determination is a potentially useful approach for identification of inflammatory intestinal disorders and tumorigenesis. Probiotics have the ability to correct dysbiotic conditions in GIT and to cause curing effects on different pathological processes.

The aim of the study was to determine the expression of *Gast* and *Chga* genes in rat duodenal epithelial cells upon long-term hypoacidity and with the administration of the multiprobiotic “Symbiter”.

Experiments were conducted on white male rats during 28 days. The animals were divided into 4 groups: 1st – control (0.2 ml of water intraperitoneally (i.p.) injection and 0.5 ml of water per os daily administration; 2nd – with multiprobiotic “Symbiter” administration (0.14 ml/kg per os, once a day); 3rd – with omeprazole injection (14 mg/kg once a day, i.p.); 4th – with simultaneously omeprazole and “Symbiter” administration. The expression of *Gast* and *Chga* genes was analyzed by semiquantitative RT-PCR with densitometry analysis.

The level of *Gast* gene expression was 1.9 times higher than control value in villi and 5.9 times higher in crypts of the animals treated only with omeprazole for 28 days ($P \leq 0.0001$). Upon simultaneous administration with the multiprobiotic “Symbiter” this parameter was 1.5 and 4.9 times lower compared to the third experimental group meaning ($P \leq 0.0001$). The level of *Chga* gene expression was 1.4 times higher in villi and 2 times higher in crypts upon long-term gastric hypoacidity compared to control value ($P \leq 0.0001$). Upon simultaneous administration with “Symbiter” this parameter was 1.3 and 1.9 times lower than values in animals of third group ($P \leq 0.0001$).

The obtained results suggest that the abundant expression of *Gast* and *Chga* genes may be associated with intensification of inflammation in rat duodenal epithelial cells and confers potential risk of neoplasia upon long-term omeprazole treatment. The administration of the multiprobiotic “Symbiter” facilitates these genes’ expression normalization due to its ability of abolishing dysbiosis and bacterial colonization of GIT and decreasing the intensity of inflammation as well as other pathological processes in duodenum.

**ОСОБЛИВОСТІ СУДИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ
ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ**

ЗАГАЙКО А. Л., ФИЛИМОНЕНКО В. П., СТРЕЛЬЧЕНКО К. В.

*Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна;
e-mail: andrey.zagayko@gmail.ru*

Надмірне зростання ваги тіла супроводжується зниженням чутливості клітин до інсуліну, тобто розвитком інсулінорезистентності. Як наслідок відбувається зниження спроможності цього гормону блокувати ліполіз у жировій тканині, підвищується вміст вільних жирних кислот (ВЖК) у крові та посилюється їх надходження до інсулінзалежних тканин, перш за все, до печінки та м'язів. Це погіршує інсулінорезистентність та спричинює порушення обміну вуглеводів, ліпідів та ліпопротеїнів. Зокрема у крові спостерігається зростання рівня глюкози, а також вмісту триацилгліцеролів (ТАГ) та ліпопротеїнів низької густини (ЛПНГ), а також атерогенні зміни в метаболізмі холестеролу. Проте

механізми розвитку атерогенної дисліпопротеїнемії за інсулінорезистентності до кінця нез'ясовані. Метою цієї роботи було дослідження деяких показників метаболізму ліпопротеїнів у сироватці крові сирійських хом'ячків за експериментальної інсулінорезистентності.

Робота виконана на самцях сирійських хом'ячків, вік яких на початок експерименту становив 1 місяць. Інсулінорезистентність моделювали утриманням тварин протягом 3-ох тижнів на висококалорійній дієті (29% жирів рослинного та тваринного походження з додаванням фруктози в дозі 2 г/ 100 г маси тіла). Сумарну концентрацію β - та пре- β -ліпо-протеїнів (АпоВ-ЛП) у сироватці крові визначали турбідиметричним методом. Швидкість естерифікації холестеролу та перенесення ефірів холестеролу (ЕХС) між класами ліпопротеїнів (ЛП) оцінювали у виділених центрифугуванням фракціях ліпопротеїнів високої густини (ЛПВГ). У розчині визначали вміст вільного ХС та його ефірів до і після інкубації з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою за допомогою стандартних ензиматичних (холестеролоксидазних) наборів. Активність ліпопротеїніпази (ЛПЛ) та печінкової ліпази (ЛП) визначали методом Н. Lithell та J. Voberg. Статистичне оброблення одержаних результатів здійснювали з використанням критерію Манна–Уїтні.

Встановлено, що утримання тварин на висококалорійній дієті спричиняє підсилення переносу ефірів холестеролу від ЛПВГ до АпоВ-ЛП на 66%, що супроводжується підвищенням вмісту АпоВ-ЛП на 42%. Швидкість естерифікації ХС при цьому не змінюється. З даних літератури та раніше встановлених нами відомо, що гіперкалорійна дієта призводить до накопичення ВЖК, надходження їх до гепатоцитів, активації синтезу ТАГ і ХС та гіперпродукції збагачених ТАГ ЛПДНГ-1. Подальша доля ЛПДНГ – перетворення на ЛПНГ – здійснюється за участі протеїну-переносника ЕХС СЕТР та залежить від швидкості гідролізу ТАГ у складі АпоВ-ЛП під дією ЛПЛ та ПЛ. За нормальних умов перенос ЕХС від ЛПВГ до АпоВ-ЛП обумовлює швидке видалення ЕХС із кровотоку гепатоцитами, так званий зворотний транспорт ХС. Але за активації цього переносу, що спостерігається в нашому експерименті, призводить до накопичення ЕХС АпоВ-ЛП та зниження ХС ЛПВГ, тобто має проатерогенний характер. При цьому відбувається накопичення ЛПВГ, збагачених ТАГ, які є переважним субстратом для ПЛ. Активність цього ензиму зростає у 1,8 раза порівняно з контролем, що згідно даних літератури є наслідком активації синтезу ензиму *de novo*. ПЛ відіграє важливу роль у метаболізмі різних фракцій ЛП, а її активація призводить до зниження швидкості надходження ремнантних ЛПДНГ, а також зменшення рівня ХС ЛПВГ. Активність іншого дослідженого ензиму ЛПЛ вдвічі знижується і, таким чином, робить суттєвий внесок у розвиток атерогенної дисліпідемії. Цей ензим гідролізує ТАГ у складі ЛПДНГ і збільшує доступність ХС для його переносу до ЛПВГ, тобто опосередковує зворотний транспорт ХС. Падіння активності ЛПЛ є додатковим фактором накопичення ТАГ та зниження рівня ХС ЛПВГ.

Таким чином, за експериментальної інсулінорезистентності, спричиненої висококалорійною дієтою, активується перенос ЕХС від ЛПВГ до АпоВ-ЛП, знижується активність ЛПЛ та зростає активність ПЛ, що призводить до накопичення проатерогенних ЛП та зменшення ХС ЛПВГ, тобто до розвитку атерогенної дисліпідемії.

EFFECT OF INDUCED NITROSATIVE STRESS ON THE ALIMENTARY OSTEOPOROSIS DEVELOPMENT IN RATS

ZAITSEVA O. V., TOKARCHUK K. O., SHANDRENKO S. G., VELIKY M. M.

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: Zaitseva_OV@ukr.net*

Over recent years it has become apparent that NO has important effects on bone cell function. It is currently unclear the molecular mechanisms of NO high concentration action on the process of bone remodeling. The aim of the research was the investigation of bacterial lipopolysaccharide induced nitrosative stress influence on the bone metabolism and changes in the oxidative stress parameters under alimentary osteoporosis condition.

White female Wistar rats were used in the investigation. The experimental model of alimentary osteoporosis was performed by using of a synthetic diet without vitamin D₃ combined with balanced content of calcium (1.2%) and phosphorus (0.7%). Rats were divided into 3 groups. 1st - control rats were kept on vitamin D₃ balanced diet, 2nd and 3rd groups were held on vitamin D₃-deficiency diet for 45 days, additionally animals of 3rd group at 30 day of experiment were intraperitoneal injected with 0.05 mg of Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccine for nitrosative stress development. After decapitation at 45 day in blood samples were determined the level of NO with DAF-2DA by flow cytometry, total calcium, inorganic phosphate and alkaline phosphatase. The main oxidative stress parameters as TBA-products (TBAp), SH-groups of low weight compounds (in liver) and total content of aldehydes (purpald assay) were determined. Also osteometric and X-ray analyses were performed.

In rats with alimentary osteoporosis level of NO in leukocytes was elevated by 17% as compared to control. In blood samples level of alkaline phosphatase was increased more than 2-fold (291 ± 50 U/l) vs. control (134 ± 22 U/l). Total calcium and inorganic phosphate level was decreased by 23 % (2.3 ± 0.2 mmol/l, control 3.0 ± 0.3 mmol/l) and 79% (0.4 ± 0.1 mmol/l, control 1.9 ± 0.2 mmol/l) respectively. The total content of aldehydes was increased average by 33% (0.8 ± 0.1 nmol/mg of protein, control 0.6 ± 0.1 nmol/mg of protein). This led to the increasing of TBAp by 60% (0.8 ± 0.1 nmol/mg of protein, control 0.5 ± 0.1 nmol/mg of protein) and SH-groups decreasing by 23% (6.9 ± 1.3 μ mol/g of tissue, control 9 ± 2 μ mol/g of tissue).

In animals with nitrosative stress the level of NO in leukocytes was increased by 17% vs. 2nd group. It was also observed normalization of the main mineral parameters. Thus, the level of total calcium and inorganic phosphate was increased by 22% and 25% relatively, alkaline phosphatase level was decreased by 41% compared to 2nd group - osteoporosis. Oxidative stress parameters stay at the same level as ones in rats with alimentary osteoporosis. It may be explained by the formation of highly reactive molecules such as the peroxy-nitrite anion and the hydroxyl radical through the NO reaction with oxygen-derived free radicals. This can lead to the maintaining of oxidative processes in rats with alimentary osteoporosis.

Results of osteometric investigation indicated about significant development of osteoporosis. The femur decreased in weight and shortened in length by 47% and 32%, the vertical femoral head diameter decreased by 14% compared to control. The X-ray investigation showed some significant changes in the structure of experimental animal's skeleton. So, in control rats it was normal X-ray picture unlike in animals of 2nd group. The rats with alimentary osteoporosis have unexpressed cortical layer of the tubular bones, deformed thorax, "square" vertebral bodies and rough spine line. In rats with nitrosative stress form of thorax was normal, iliac bone wings and transverse outgrowth of the caudal vertebrae became visible.

We suggested that the possible mechanism of positive effects on mineral metabolism and on structure of rat's skeleton with alimentary osteoporosis may be realized through the inhibition of both osteoclast formation and activity and NO-induced apoptosis of osteoclast progenitors. High concentrations of NO may also form additional cross-links between collagen molecules in bone tissue thereby stabilizing its structure.

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ НА СТАН АОРТИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

ЗАІЧКО Н. В., ОЛЬХОВСКИЙ О. С., ТУБУЛКАН К. М.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail: nzaichko@mail.ru

Важливу роль в регуляції судинного тонуусу відіграє гідрогенсульфід (H₂S) – метаболіт сірковмісних амінокислот, цитопротектор та антиоксидант. Раніше нами було показано, що в процесі старіння відбувається зниження активності H₂S-синтезуючих ензимів в аорті щурів. Водночас, вікові особливості впливу модуляторів обміну H₂S на стан судин залишаються не визначеними, що і стало метою нашого дослідження.

Вивчено вплив двотижневого введення специфічних та неспецифічних модуляторів обміну H_2S – NaHS (3 мг/кг і.п.), пропаргілгліцину (50 мг/кг і.п.), тіолактону гомоцистеїну (200 мг/кг і.г.), полімікроелементного комплексу есміну (35 мг/кг і.г.) на стан аорти щурів трьох вікових груп – статевонезрілих (1–2 міс.), дорослих (6–8 міс.) та старих (24–26 міс.). Визначали активність цистатіонін-гама-ліази (ЦГЛ), цистеїнамінотрансферази та 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (ЦАТ/МСТ), тіосульфатдитіолсульфідтрансферази (ТСТ), вміст H_2S та молекул адгезії судинних клітин sVCAM (ELISA, Diaclone, Франція).

Зниження активності H_2S -синтезуючих ензимів в аорті при старінні асоціювалось зі зниженням вмісту H_2S та підвищенням вмісту sVCAM у сироватці крові. У щурів віком 24–26 міс. активність ЦГЛ, ЦАТ/МСТ, ТСТ в аорті та вміст H_2S у сироватці крові був достовірно нижчим на 17–18%, ніж у щурів віком 6–8 міс., і на 27–45% – ніж у щурів віком 1–2 міс. Вміст sVCAM у сироватці крові щурів віком 24–26 міс. становив $652 \pm 22,4$ нг/мл; 6–8 міс. – $508 \pm 20,9$ нг/мл; 1–2 міс. – $456 \pm 30,8$ нг/мл ($P < 0,05$ відносно старих та дорослих щурів відповідно). У старих щурів між активністю ЦГЛ і сироватковим вмістом H_2S виявлявся достовірний прямий зв'язок ($r = 0,63$, $P < 0,05$) і обернений – із вмістом sVCAM ($r = -0,62$, $P < 0,05$). У процесі старіння чутливість аорти до дії специфічних та неспецифічних інгібіторів чи активаторів синтезу H_2S суттєво посилювалась. Так, введення пропаргілгліцину знижувало активність ЦГЛ у щурів віком 24–26 міс., 6–8 міс та 1–2 міс. на 61,2; 52,2 та 36,8%. Введення тіолактону гомоцистеїну спричиняло зниження активності ЦГЛ, ЦАТ/МСТ, ТСТ в аорті щурів всіх вікових груп, але найбільший депримуєчий ефект реєструвався у щурів віком 24–26 міс. Введення пропаргілгліцину та тіолактону гомоцистеїну посилювало ознаки асоційованої з віком ендотеліальної дисфункції, про що свідчить вірогідно більш низький вміст (на 58–62%) H_2S та більш високий вміст (43–75%) sVCAM у сироватці крові старих щурів дослідних груп, у той час як у статевонезрілих щурів ці показники змінювались на 10–15%. Введення NaHS спричиняло вірогідне підвищення вмісту H_2S та зниження вмісту sVCAM у сироватці крові старих і дорослих щурів дослідних груп (на 30–45%), але не впливало на активність H_2S -синтезуючих ензимів в аорті. Введення есміну викликало достовірне підвищення активності H_2S -синтезуючих ензимів в аорті старих та дорослих щурів, сприяло нормалізації вмісту H_2S та sVCAM у сироватці крові.

Таким чином, у процесі старіння збільшується чутливість судин до дії модуляторів обміну H_2S . Порушення обміну H_2S є вагомим патерном формування асоційованої з віком патології серцево-судинної системи. Есмін – полімікроелементний препарат, що містить активатори ензимів обміну H_2S , зменшує негативний вплив старіння на стан судин.

СТАН ТРОМБОЦИТІВ У ЩУРІВ ІЗ ПОРУШЕННЯМИ ОБМІНУ СІРКОВІСНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ

ЗАІЧКО Н. В., ШТАТЬКО О. І., КАЧУЛА С. О.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail: nzaichko@mail.ru

Синдроми гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) та гіперцистеїнемії є визнаними чинниками акселерації серцево-судинної патології. Підвищені рівні гомоцистеїну (ГЦ) та цистеїну в крові виявляються у 10% здорових дорослих та у 30–40% пацієнтів із ішемічною хворобою серця, гіпертонічною хворобою, венонозними тромбозами, цереброваскулярною патологією. У хворих із серцево-судинною патологією та тромбозами відмічають зниження вмісту гідрогенсульфіду (H_2S) – біологічно активного метаболіту гомоцистеїну та цистеїну, що спонукає до вивчення його ролі в реалізації вазотоксичного та протромбогенного ефекту ГГЦ та гіперцистеїнемії. Метою роботи було вивчити стан тромбоцитів при різних експериментальних порушення обміну ГЦ, цистеїну та H_2S у щурів.

На 200 білих нелінійних щурах-самцях масою 200–270 г були відтворені моделі гострої метіонінової, гіповітамінозно-метіонінової (14 діб), тіолактон ГЦ-індукованої ГГЦ, у тому числі на

тлі інгібування NO-синтази L-NAME (28 діб), гіперцистеїнемії (28 діб), за введення модуляторів обміну H_2S – пропаргілгліцину, NaHS (14 діб). Досліджували агрегацію тромбоцитів, середній розмір тромбоцитів (MPV), активність PGH-синтази та апірази тромбоцитів. У плазмі крові визначали рівень ГЦ за набором “Homocysteine EIA” (Axis-Shield, Велика Британія), цистеїну та H_2S (спектрофотометричними методами).

Вміст ГЦ у плазмі крові зростав внаслідок гострої метіонінової ГГЦ у 4,8 раза, при гіповітамінозно-метіонінової ГГЦ – у 12–13 разів, у разі введення тіолактону ГЦ – у 2,3–2,5 раза, при її поєднанні введенням L-NAME – з 2,7–3,2 рази. При гіперцистеїнемії вміст цистеїну зростав у 1,3–1,5 раза. При гіповітамінозно-метіонінової ГГЦ також зростав вміст цистеїну в крові. Підвищення вмісту ГЦ та/або цистеїну супроводжувалось зниженням (на 30–40%) вмісту H_2S у сироватці крові ($r = -0,63-0,77$, $P < 0,05$), при цьому співвідношення ГЦ/ H_2S або цистеїн/ H_2S зростало багаторазово порівняно з контролем.

Гостра ГГЦ зумовлювала оборотне посилення спонтанної та ADP-індукованої агрегації тромбоцитів. Тривала ГГЦ та гіперцистеїнемія спричинювала формування гіперреактивності тромбоцитів, яка проявлялась високою спонтанною агрегацією, зниженням порогу чутливості тромбоцитів до ADP та інших індукторів, зміною їх морфологічних параметрів – збільшенням MPV (з $7,00 \pm 0,11$ до $8,26 \pm 0,20$ фл, $P < 0,001$), анізоцитозом, підвищенням активності PGH-синтази та зниженням активності апірази. Показники стану тромбоцитів корелювали з рівнем ГЦ та цистеїну в крові ($r = 0,62-0,79$, $P < 0,05$). Найвиразніші порушення стану тромбоцитів виявлялись за умов гіповітамінозно-метіонінової ГГЦ та у разі поєднання ГГЦ із інгібуванням синтезу NO. Інгібування синтезу H_2S пропаргілгліцином супроводжувалось посиленням спонтанної та індукованої агрегації тромбоцитів, підвищенням активності PGH-синтази, але не змінювало MPV. Підвищення вмісту H_2S у плазмі крові за введення NaHS асоціювалось зі зниженням чутливості тромбоцитів до дії індуктора агрегації ADP.

Таким чином, сірковмісні амінокислоти та H_2S залучені до регуляції функціонального стану тромбоцитів. Найвиразніші зміни стану тромбоцитів характерні для комбінованих порушень ГГЦ у поєднанні з гіперцистеїнемією або з інгібуванням синтезу NO. Зниження вмісту H_2S у плазмі крові також є чинником формування гіперреактивності тромбоцитів.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБМЕНА НУКЛЕОТИДОВ С ПРООКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМАМИ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

ЗУЙКОВ С. А., ЖЕБЕЛЕНКО Я. Г., ШАТОВА О. П., БОРЗЕНКО Б. Г.

*Донецкий национальный медицинский университет
имени Максима Горького, Украина;
e-mail: 83chem@mail.ru*

Онкологические заболевания являются актуальной проблемой в Украине и во всём мире, а опухоли желудка занимают одно из лидирующих мест в структуре данной патологии. Для рака желудка (РЖ) характерно проявление гипоксии, с последующим нарушением утилизации кислорода и усиленной генерацией активных форм кислорода (АФК). При этом, изменения в нуклеиновом, протеиновом, углеводном, энергетическом обменах, а также в функционировании антиоксидантной защиты (АОЗ), могут быть обусловлены как репарационными процессами, так и быть этапом в развитии онкологической патологии.

Цель представленной работы – исследовать изменения энзиматических активностей пуринового обмена, прооксидантной системы (ПОС) и антиоксидантной системы (АОС) при раке желудка.

Изучали активность энзимов распада пуриновых нуклеотидов: аденозиндезаминазы (АДА) и ксантиноксидазы (КО) оказывающих существенное влияние на пул прооксидантов, а также актив-

ність ензимів АОЗ: супероксиддисмутази (СОД) і глутатионпероксидази (ГПО) в еритроцитах больных РЖ.

Исследование энзиматических активностей проводили в гемолизате эритроцитов 29 условно здоровых людей в возрасте от 40–60 лет, составивших контрольную группу и 22 больных РЖ, которые были разделены на две группы в зависимости от стадии рака: 1-я группа – 12 человек с I–II стадией заболевания, 2-я группа – 10 человек с III–IV стадией рака. Активность всех энзимов измеряли на спектрофотометре. Статистическую обработку данных делали с помощью программы «Statistica 10.0».

В эритроцитах онкобольных было установлено достоверное ($P < 0,001$) снижение АДА относительно группы контроля, при этом во 2 группе она была снижена практически в 2 раза. Активность КО достоверно ($P < 0,05$) была увеличена только во 2 группе. Однако в энзиматическом звене АОЗ наблюдались неоднородные изменения: в 1-й группе активность СОД была снижена ($P < 0,001$) относительно контроля, а во 2 группе она увеличивалась в 1,5 раза ($P < 0,001$), при этом активность энзима второй линии защиты – ГПО, достоверно снижалась ($P < 0,001$) как в 1-й, так и во 2-й группе относительно контроля.

Выявленный дисбаланс между ПОС и АОС указывает на проявление окислительного стресса в эритроцитах онкобольных. При этом снижение АДА, которое резко выражено на поздних стадиях рака, приводит к нарушению биоэнергетики в эритроците. Это энзиматическое изменение, также способствует увеличению уровня аденозина в клетке, участвующего в активации клеточных энзимов АОЗ, что согласуется с повышением активности СОД и, в свою очередь, запуская цитопротекторный механизм опухолевых клеток, способствуя их лучшему выживанию.

ПРОФІЛАКТИКА ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ ІНДУКОВАНОЇ ПРОТИПУХЛИННИМИ ЗАСОБАМИ

ЙОЛТУХІВСЬКИЙ М. М., ЛУЦЮК М. Б.

*Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail: yoltukhivskyy@i.ua*

Підвищення рівня гомоцистеїну у крові – гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) розглядається як предиктор багатьох патологічних станів серцево-судинної системи, нервової системи, нирок та ін. Виявлено, що ГГЦ може розвиватись за використання різних лікарських засобів, у т.ч. протипухлинних препаратів (метотрексату, 6-меркаптопурину, цисплатину тощо). До найбільш виражених побічних ефектів цитостатиків відносять нейро-, ото-, нефро- та гастротоксичність. Раніше нами було показано, що прояви цисплатиніндукованої нефропатії у щурів тісно корелюють з показниками порушення обміну сірковмісних метаболітів. Ці зміни виражались окрім ГГЦ у появі гіперцистеїнемії та у зниженні сироваткового гідроген сульфід (H_2S). Зменшення продукції останнього часто розглядається як патогенетична ланка у виникненні інфарктів, інсультів та ниркової недостатності. Нещодавно з'ясувалось, що зростання цистеїну у крові (особливо його непротейнової фракції) спричиняє розвиток оксидативного стресу, патології судин та тромбозів. Отже, поряд із ГГЦ, гіперцистеїнемію та дефіциту H_2S також можна вважати потенційними патогенетичними чинниками у розвитку ускладнень цитостатичної терапії. Відомо, що вітаміни B_6 , B_9 , B_{12} відіграють ключову роль в метаболізмі гомоцистеїну, а вітамін B_6 задіяний ще й в обміні цистеїну та синтезі H_2S . Використання цих вітамінів – один зі шляхів корекції як ГГЦ, так й інших патологічних станів, асоційованих із порушенням обміну сірковмісних метаболітів. Метою роботи було вивчення впливу комплексу вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} , як можливого засобу корекції порушення обміну сірковмісних метаболітів в умовах використання цисплатину.

Досліди проводили на 45 білих щурах-самцях масою 200–250 г. Модель цисплатинової нефропатії у щурів (група № 2 і 3) створювали шляхом одноразового введення цисплатину (7 мг/кг маси тіла інтраперитонеально). Натомість контрольній групі тварин (№ 1) вводили фізіологічний розчин. Щури групи 3 додатково отримували суміш вітамінів B_6 , B_9 і B_{12} (у співвідношенні 10 : 2 : 0,2)

1 раз на добу інтрагастрально у дозі, що забезпечувала надходження 0,714 мг вітаміну B₆, 0,143 мг вітаміну B₉ та 0,0143 мг вітаміну B₁₂ на 1 кг маси тварин. Уведення вітамінів розпочинали за 10 діб до моделювання цисплатинової нефропатії та продовжували до кінця експерименту. У плазмі крові визначали вміст гомоцистеїну, цистеїну та H₂S, а в гомогенатах нирок досліджували активність ензимів утилізації гомоцистеїну і цистеїну та продукції H₂S.

Через 3 доби після введення цисплатину відмічалось формування ГГЦ, гіперцистеїнемії та зниження H₂S. Так, у тварин дослідної групи виявили достовірне зростання у сироватці крові рівня загального гомоцистеїну на 88,5%, загального цистеїну на 24,0% (особливо виразним було зростання фракції непротеїнового цистеїну – на 45,4%) відносно контролю. На цьому тлі реєстрували зниження на 17,9% вмісту H₂S ($P < 0,05$). Використання вітамінів послаблювало негативний вплив цисплатину, внаслідок чого концентрація наведених показників у сироватці крові нормалізувалася. Так, рівень гомоцистеїну падав на 42,8%, H₂S – зростав на 18,4%, а загального цистеїну – знижувався на 14,3% (в тому числі непротеїнового – на 24,3%) відносно групи тварин, які отримували лише цисплатин ($P < 0,05$). При цьому в нирках відмічалось зростання активності ензимів утилізації гомоцистеїну, цистеїну і продукції H₂S.

Таким чином, вітамінна корекція порушень обміну сірковмісних метаболітів за умов використання цисплатину зменшує ризик розвитку ускладнень, спричинених вказаним та, можливо, іншими протипухлинними препаратами, які індукують гіпергомоцистеїнемію.

ЗМІНИ КОНЦЕНТРАЦІЇ L-АРГІНІНУ, НІТРОГЕНУ ОКСИДУ ТА АКТИВНОСТІ АРГІНАЗИ У ПЛАЗМІ КРОВІ ТА ЛІМФОЦИТАХ У ХВОРИХ ІЗ ХРОНІЧНОЮ НИРКОВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ ДО ТА ПІСЛЯ СЕАНСУ ГЕМОДІАЛІЗУ

ІВАНОЧКО Р. Б., СКЛЯРОВ О. Я.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: Ivanochko_07@mail.ru*

Розвиток хронічної ниркової недостатності (ХНН) супроводжується дисфункцією ендотеліоцитів, гіпертензією, підвищенням вмісту у крові цитокінів, зміною функцій клітин крові, оксидативним стресом та порушенням системи NO-синтази/аргінази. За умов гемодіалізу (ГД) відбуваються також зміни активності NO-синтаз, вмісту нітрогену оксиду та процесів ліпопероксидації у формених елементах крові, зокрема у лімфоцитах. Метою цієї роботи було дослідити зміни вмісту L-аргініну, нітрогену оксиду та активності аргінази у плазмі та лімфоцитах крові хворих із хронічною нирковою недостатністю до та після сеансу діалізу.

У дослідження було включено 16 хворих (чоловіків – 6, жінок – 10) з ХНН V ступеня (гломерулонефрит), що отримують лікування замісної ниркової терапії методом гемодіалізу. Середній вік пацієнтів становив 56 років. Артеріальний тиск у хворих із ХНН становив: систолічний 170 мм рт. ст., діастолічний 85 мм рт. ст. Групу порівняння склали кров 20 донорів, середнім віком – 48 років. У плазмі крові та у лізатах лімфоцитів визначали вміст L-аргініну, нітрит-аніону та активність аргінази.

У донорів концентрація L-аргініну на 62%, нітрит-аніону на 16%, а активність аргінази на 21% вища у плазмі крові, порівняно з лізатом лімфоцитів. У хворих на ХНН співвідношення між концентрацією L-аргініну та вмістом нітрит-аніону у плазмі крові та лізатом лімфоцитів суттєво не змінювалось, однак активність аргінази у плазмі крові була на 48% вищою. Концентрація L-аргініну у плазмі крові хворих на ХНН знижувалась – на 28% ($P < 0,05$), відзначена тенденція до зменшення вмісту нітрит-аніону та зростання активності аргінази; у лізаті лімфоцитів було відзначено зниження вмісту L-аргініну на 31% ($P < 0,05$), активність аргінази та вміст нітрит-аніону виражено не змінювались, у порівнянні з показниками групи донорів.

Після сеансу гемодіалізу у плазмі крові та у лізаті лімфоцитів концентрація L-аргініну знижувалась на 29–30% ($P < 0,05$), вміст нітрит-аніону у лізаті лімфоцитів зменшувався на 15% ($P < 0,05$), активність аргінази мала тенденцію до зростання, порівняно з показниками до діалізу.

Сеанс гемодіалізу зумовлює різке зниження концентрації L-аргініну та нітрит-аніону у плазмі та у лізаті лімфоцитів хворих на ХНН, що може спричинювати поглиблення ендотеліальної дисфункції. Одним із напрямків корекції є застосування препаратів L-аргініну хворим на ХНН.

ПОШУК АНТИОКСИДАНТІВ СЕРЕД ПОХІДНИХ КСАНТИНУ

ІВАНЧЕНКО Д. Г., РОМАНЕНКО М. І., АЛЕКСАНДРОВА К. В., ПАХОМОВА О. О.

Запорізький державний медичний університет, Україна;
e-mail: aleksandrovaev55@gmail.com

Добре відомо, що процеси вільнорадикального окислення відіграють важливу роль у метаболізмі клітин. Це пов'язано з двома основними моментами: з одного боку, реакції вільнорадикального окислення (ВРО) є необхідним етапом різних метаболічних процесів, а, з іншого боку, підвищена інтенсивність ВРО у багатьох випадках є або наслідком, або причиною тих чи інших патологічних змін у клітинах і тканинах. Вільні радикали й особливо активні форми кисню надзвичайно реакційноздатні, оскільки мають у своєму складі атоми кисню з додатковими неспареними електронами. Вони досить легко реагують з ліпідами, протеїнами, нуклеїновими кислотами та вуглеводами. Це призводить до пошкодження біополімерів, клітинних мембран і до порушень метаболізму й структурної організації клітини. Слід зазначити, що вільні радикали різних типів все частіше пов'язують з цілим рядом станів і хвороб, таких як ішемічна або реперфузійна хвороба, тромбоз, емболія, атеросклероз, хвороба Альцгеймера та ін. Таким чином, створення нових сучасних препаратів, які мають антиоксидантні властивості, є актуальним та перспективним напрямком. Метою роботи є пошук нових високоєфективних антиоксидантних засобів серед похідних ксантину.

Для досягнення поставленої мети нами було синтезовано значний ряд неописаних в літературі 1,8-дизаміщених теоброміну. Чистоту та індивідуальність синтезованих речовин контролювали методами тонкошарової хроматографії, ІЧ-спектроскопії та спектроскопії протонного магнітного резонансу.

Антиоксидантну активність (АОА) синтезованих сполук вивчали *in vitro* на п'яти моделях ініціювання вільнорадикального окислювання (ВРО): неензиматичне та ензиматичне ініціювання, окисна модифікація протеїну, інгібування супероксид- та NO-радикалів. Неензиматичне ініціювання ВРО моделювали в суспензії яєчних ліпопротеїдів, додаючи солі заліза (II). Ензиматичне ініціювання ВРО проводили в гомогенаті мозкової тканини білих щурів лінії Вістар, в який додавали надлишок NADPH. АОА оцінювали у відсотках гальмування утворення кінцевого продукту ВРО – малонового діальдегіду. Ініціацію окислювальної модифікації протеїну проводили в гомогенаті мозку нелінійних білих щурів із подальшим визначенням карбонільних та карбоксильних груп. АОА на початковій стадії розвитку ВРО оцінювали шляхом інгібування супероксидрадикала в реакції автоокислення адреналіну в адренохром у лужному середовищі, що призводило до утворення активної форми кисню – супероксирадикала. У біологічних системах швидкість даного процесу залежить від активності супероксиддисмутази, але в хімічній системі *in vitro* ця реакція може бути застосована для кількісної оцінки АОА досліджуваних сполук. Оцінювання АОА сполук по інгібуванню NO[•]-радикала проводили шляхом фотоіндукції натрію нітроприсуїду, що супроводжується накопиченням NO[•]-радикала, про що судять за швидкістю окислення аскорбату по спектрофотометричній абсорбції проби при 265 нм. Еталонами порівняння були тіотріазолін та емоксипін. Вірогідність статистичних даних $P \leq 0,05$.

Встановлено, що найперспективнішим класом є 8-бензиліденгідразинотеоброміни, АОА яких значно перевищує еталони порівняння. Для остаточних висновків необхідно провести додаткові дослідження. Робота в даному напрямку триває.

ЗМІНИ РІВНЯ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ПРИ ХІМІЧНОМУ ОПІКУ СТРАВОХОДУ І-ГО СТУПЕНЯ

ЩУК Т. В., РАЄЦЬКА Я. Б., САВЧУК О. М., ОСТАПЧЕНКО Л. І.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології», Україна;
e-mail: tanuka-05@ukr.net*

На сьогоднішній день недостатньо даних щодо рівня ендogenous інтоксикації організму при хімічному опіку стравоходу (ХОС) І-го ступеня у дітей. Серед метаболітів, які мають здатність виявляти токсичну дію на всі життєздатні органи і тканини заслуговують на увагу середньомолекулярні продукти протеолізу протеїнів молекулярної маси (Мм). Вважають, що саме Мм є одним із біохімічних маркерів опіку шлунково-кишкового тракту і відображають ступінь порушення метаболізму протеїнів, який корелює з основними лабораторними показниками метаболічних порушень. Метою роботи було експериментально відтворити модель ХОС І-го ступеня, яка б відповідала тій, що є характерною для дітей від 1 до 8 років та дослідити вміст олігопептидів та Мм у печінці, селезінці, стравоході та сироватці крові щурів.

Дослідження проводили на білих нелінійних статевонезрілих щурах (1-місячних) масою 90–110 г, яким моделювали опік стравоходу І-го ступеня 30%-им розчином CH_3COOH . Гістологічне дослідження стану слизової оболонки стравоходу свідчило, що у разі вищезазначених умов утворювався опік І-го ступеня (за С. Д. Терновський, Є. Н. Ванцян). Тварин декапітували на 1, 7, 15, і 21-шу доби, що відповідає стадіям шоку, ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби. Вміст Мм та олігопептидів у печінці, селезінці, стравоході та сироватці крові щурів визначали за методами (Габриэлян Н. И. 1985 та Малахова М. Я. 1995) з модифікаціями, концентрацію протеїну – за методом Бредфорд.

Встановлено, що змодельований стан ХОС І-го ступеня призводить до збільшення рівня Мм, які визначалися при довжині хвилі 254 нм. Це фракція речовин із Мм в межах 2000–5000 Да. Статистично вірогідне підвищення даного показника в сироватці крові дослідних тварин відмічали на 1 та 7-му доби, максимальні зміни припадали на 1-шу добу експерименту, при цьому рівень Мм у сироватці крові перевищував контрольні значення в 1,5 раза. Вірогідні зміни олігопептидів у сироватці крові дослідних тварин визначали на 1 та 7-му доби при ХОС І-го ступеня, що перевищували контрольні значення в 1,2 і 1,1 раза відповідно. Вміст олігопептидів у печінці, селезінці, стравоході максимально підвищувався на 21 добу в 2,3; 1,2; 1,6 раза відповідно, порівняно з контрольними значеннями.

Таким чином, враховуючи підвищений рівень олігопептидів та Мм, можна припустити, що змодельований стан ХОС І-го ступеня призводить до деструктивних змін в організмі, які обумовлені, як протеолізом протеїнів, так і руйнуванням клітин.

CALIXARENES IN BIOCHEMICAL AND MEDICAL RESEARCHES

KALCHENKO V. I.

*Institute of Organic Chemistry, National Academy of Sciences Ukraine, Kyiv;
e-mail: vik@ioch.kiev.ua*

The calixarenes are macrocyclic cup-shaped molecules, easily synthesized by the cyclo-condensation of *para*-substituted phenols and formaldehyde. The calixarenes intramolecular cavities formed by the phenolic rings can host complementary cations, anions and neutral molecules especially when several binding sites are preorganized at the macrocyclic platform. These properties are reason of the design of highly selective extractants, supramolecular catalysts, sensors, artificial enzyme and bioactive compounds on the calixarene scaffold.

In the report the literature data as well as results of own examination of calixarenes host-guest complexation with biomolecules, and biochemical or medical investigations of the calixarenes will be presented. The report will be broken down into the several main parts.

In the first part an ability of the calixarenes to form the host-guest supramolecular complexes with bioanions, bioanions, biomolecules such as aminoacids, peptides, small proteins, nucleobases, nucleosides, nucleotides, nucleic acids will be discussed.

The second part will be mainly focused on the enzyme inhibitors and enzyme mimics. The calixarenes with various types of the upper or the lower rim functions (amides, hydroxyphosphonic or aminophosphonic acids, sulfonylamidines, peptides, etc.) can inhibit different enzymes with high selectivity. On the other hand the calixarenes with carboxylic and sulfonato groups as well as metallocomplexes of calixarenes show enzyme mimetic properties.

The third part will be addressed to the calixarenes ionophoric properties and their ability to form the cation channels as well as to block the chloride channels.

The fourth part focuses on calixarenes as gene delivery vectors, their ability to compact nucleic acids, transfection ability *in vitro* and cytotoxicity. Their fixed conformation with the possibility of multiple functional groups at the upper and lower rims allows preparation of cone-shaped macromolecules capable of programmed hierarchical assembly in the presence of DNA. It is shown that specially designed calixarenes, particularly those having amphiphilic structure with clustered DNA binding units, can form small virus-sized DNA nanoparticles with well-defined architecture, high transfection efficiency and low toxicity.

The fifth part will summarize the antibacterial, antiviral, anticancer, antituberculosis, antitrombotic properties, toxicity of the calixarenes as well as the mechanism of their bioactivity.

ГІПОГЛІКЕМІЧНИЙ ЕФЕКТ АНТОЦІАНІДИНІВ КАПУСТИ ЧЕРВОНОКАЧАННОЇ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

КАНЮКА О., ЛУПАК М., ГАЧКОВА Г., НАРУТА Е., БУКО В.

Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;

e-mail: kanokaol@yahoo.com;

Інститут біохімії біологічно активних сполук, Гродно, Білорусь;

e-mail: buko@bioch.basnet.by

Стрімке зростання рівня захворювання на цукровий діабет зумовлює необхідність пошуку нових ефективних антидіабетичних препаратів рослинного походження. У разі тривалого застосування синтетичних препаратів відмічено розвиток резистентності до них, помітне погіршення ліпідного обміну, прискорення розвитку атеросклерозу великих і дрібних судин, формування діабетичної ретинопатії, нефропатії, ангіопатії. Альтернативою лікуванню медикаментозними препаратами є використання фітопрепаратів. Дія природних сполук є більш фізіологічною для організму у порівнянні з їхніми синтетичними аналогами, оскільки вони містять комплекс біологічно активних сполук, які впливають одночасно на декілька систем організму, що забезпечує позитивний клінічний ефект. Метою роботи було дослідити цукрознижуючу дію препарату антоціанідинів (АЦ) капусти червонокочанної (*Brassica oleracea* L.) за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД) 1-го типу.

ЕЦД індукували у щурів введенням стрептозоточину (5,5 мг на 100 г маси тіла тварини, в/о). Через 5 днів після індукції цукрового діабету тваринам раз на добу *per os* вводили водний розчин АЦ (0,6 г на 1 кг маси тіла) в об'ємі 1 мл впродовж 28 діб. Гіпоглікемічний ефект АЦ оцінювали за здатністю знижувати рівень глюкози на максимумі розвитку гіперглікемії після навантаження глюкозою (1 г/кг маси тіла). Критерієм сумарної відповіді на глюкозотолерантний тест слугував інтегральний показник площі під глікемічними кривими (area under a curve – *AUCglu*), який відображає загальне підвищення концентрації глюкози після споживання глюкози та АЦ. Вміст С-пептиду та інсуліну у плазмі крові

визначали імуноензиматичним методом. За умов ЕЦД показано підвищення концентрації глюкози у крові тварин у 5,5 рази, порівняно з контролем, при цьому глікемічна крива мала максимальний пік на 20-ту хв (аналогічно до контрольної групи тварин), що зумовлювало зростання *AUC_{glu}* у 2 рази. У разі введення АЦ тваринам із ЕЦД вміст глюкози у крові знижувався на 40%. Аналіз гіпоглікемічних кривих показав зсув піку концентрації глюкози з 20-ї на 10-ту хв, що супроводжувалось зменшенням *AUC_{glu}* на 25%, порівняно з ЕЦД. На фоні гіперглікемії, яка розвивалася за умов ЕЦД показано підвищення концентрації глікозильованого гемоглобіну на 66%, зниження рівня С-пептиду в 1,8 рази та інсуліну в 2,2 рази, порівняно з контрольною групою тварин. Введення АЦ тваринам з ЕЦД сприяло зниженню вмісту глікозильованого гемоглобіну на 25%, зростанню рівня С-пептиду в 3,4 рази та інсуліну в 1,4 рази.

Таким чином, на моделі стрептозотоцинового діабету показано, що АЦ капусти червонокочанної виявляють гіпоглікемічну дію. Антоціаніди знижують вміст глюкози, глікозильованого гемоглобіну та підвищують рівень інсуліну та С-пептиду у крові щурів, що підтверджує їх позитивний ефект на функцію β -клітин острівців Лангерганса підшлункової залози.

БАКТЕРІАЛЬНА ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ДІЇ ЛЕКТИНІВ

КАРПОВА І. С., БІЛОЛІПЕЦЬКА О. С.

*Інститут молекулярної біології та генетики НАНУ, Київ, Україна;
e-mail: wolfess.144@gmail.com*

У вуглеводзв'язувальних протеїнів – лектинів, які входять до складу всіх без винятку організмів, знайдено антивірусну, імуномодулюючу та протипухлинну активність, а також здатність впливати на мінливість і мутаційний процес. Перспектива фармакологічного застосування лектинів потребує поглиблених знань щодо молекулярних механізмів їх дії, а також висуває завдання пошуку серед них найефективніших біологічно активних препаратів. В нашій попередній роботі за допомогою рекомбінантних плазмід було одержано інсерційні мутанти *Bacillus subtilis*, які містили послідовність *Alu*-повтору геному людини. Мутанти утворювали гігантські клонії, діаметр яких у 3–5 разів перевищував стандартний, що свідчило про суттєві порушення ростових процесів. Метою роботи була розробка оригінальної бактеріальної моделі для вивчення цитостатичного впливу лектинів та пошуку можливих мішеней такого впливу.

Об'єктами дослідження слугували стандартний ауксотрофний мутант *B. subtilis* Lys-42 (*lys*⁻) та одержані на його основі 4 *Alu*-інтегранти з фенотиповими ознаками посиленого росту, а також додатково залежністю від вітамінів групи В і амінокислот орнітину та аргініну (колекція відділу генетики людини ІМБГ НАНУ): А11, А26, А33 та А187. Бактерії культивували на агаризованому середовищі (1,5%) з додаванням амінопептиду (Росія) до 30% за об'ємом. Для характеристики генетичного поліморфізму мутантів проводили ПЛР із застосуванням праймерів до основних типів повторюваних послідовностей бактерій (REP, ERIC та BOX). Застосовували комерційні препарати лектинів (Лектинотест, Україна) з різною структурою: лектин квасолі звичайної (PHA-P) та його ізоформи (PHA-E, PHA-L), лектин зародків пшениці (WGA), лектин кори бузини чорної (SNA), а також лектин хурми східної (LXC), виділений нами шляхом висолювання сульфатом амонію. Для пошуку мішеней дії лектинів за дифузним методом, шляхом співставлення результатів сумісного та окремого впливу двох чинників, застосовували антибіотики – інгібітори синтезу клітинної стінки (тейкопланін, цефалотин, цефотаксим); інгібітори синтезу протеїну (доксидиклін, азитроміцин та еритроміцин, HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Індія) та інгібітор синтезу ДНК – мітоміцин С (Sigma, США).

За результатами ПЛР було виявлено незначний міжштамовий поліморфізм за профілем розподілу продуктів ампліфікації. Це підтверджує наявність в геномі *B. subtilis* власних повторюваних елементів і їх можливої участі в перебудовах за наявності чужорідного *Alu*-повтору. Вияви-

лось, що *Alu*-інтегранти характеризуються достовірно підвищеною чутливістю до лектинів порівняно з вихідним штамом із певними міжштамовими відмінностями. Зокрема, штам А33 був чутливим до дії всіх застосованих препаратів лектинів в ряду РНА-Л > WGA > РНА-Р > SNA > РНА-Е > ЛХС. При цьому вихідний штам Lys-42 виявив слабку чутливість лише до дії WGA та ЛХС. За одночасного застосування лектинів і антибіотиків із відомим механізмом дії було виявлено здатність РНА-Р та його ізоформ посилювати ефект антибіотиків-інгібіторів синтезу клітинної стінки, особливо тейкопланіна. При цьому сумарний препарат РНА-Р був менш ефективним, ніж окремі ізоформи. Лектин SNA та ЛХС значно підсилювали вплив інгібіторів синтезу протеїну, в більшій мірі еритроміцину, який діє на рівні елонгації. Синергічної дії лектинів і мітоміцину С не виявлено.

Alu-інтегранти *B. subtilis* із порушеннями росту, де зміни на морфологічному, біохімічному і молекулярному рівні спричиняють підвищену чутливість до дії лектинів можуть бути використані для подальшого вивчення особливостей цитостатичної дії лектинів.

ВПЛИВ IgG, ЯКІ УТВОРЮЮТЬСЯ ЗА РІЗНИХ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНІВ, НА СЕКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ ТРОМБОЦИТІВ

КАТРИЙ Т. Б., КРАВЧЕНКО Н. К., САВЧУК О. М.

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

Патологічна активація імунної системи має місце за багатьох хвороб. Автоантитіла, спрямовані проти рецепторів клітинної поверхні чітко патогенетичні і зумовлюють функціональні порушення органів та систем організму. Автоантитіла були виявлені у сироватці крові хворих із такими системними автоімунними захворюваннями як системний склероз, ревматоїдний артрит, діабет, системний червоний вовчак, тиреоїдит та ін. За деяких із патологічних станів автоантитіла можуть виступати як предиктором самої хвороби, так і швидкості її прогресування. За органоспецифічних автоімунних захворювань таких як діабет 1 типу та тиреоїдит, автоантитіла можуть бути виявлені у периферичній крові за роки до пошкодження гормонсекретуючих клітин. Мета цієї роботи – дослідження впливу IgG, які утворюються за різних патологічних станів, на секреторну функцію тромбоцитів.

У дослідженні взяли участь 3 групи хворих – із діагнозом системний червоний вовчак, атеротромботичний ішемічний інсульт та кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії. Діагноз встановлювали на підставі нейровізуалізаційних критеріїв у I та II неврологічних відділеннях Київської міської клінічної лікарні № 4.

IgG виділяли з плазми крові методом афінної хроматографії на протеїн А сефарозі. Секреторну функцію тромбоцитів оцінювали за вивільненням інгібітору активаторів плазміногену 1 типу методом вестерн блотингу. За системного червоного вовчача спостерігались коливання рівня IgG у різних хворих. Середній показник у дослідженій популяції складав $7,45 \pm 2,95$ мг/мл, проте 34% хворих мали значно підвищену концентрацію антитіл, яка досягала $10,86 \pm 1,99$ мг/мл. Загальна фракція IgG хворих спричинювала секрецію PAI-1 тромбоцитами, що у 4 рази перевищувала показник, характерний для IgG практично здорових донорів. За умов експериментальної моделі хронічної алкогольної інтоксикації спостерігалось зростання концентрації IgG на 30% на 10-й день експерименту. Загальна фракція патологічних IgG зумовлювала секрецію PAI-1 тромбоцитами, що у 2 рази перевищувала показник, характерний для контрольних IgG. За атеротромботичного ішемічного інсульту не було виявлено змін концентрації IgG. Кардіоемболічний ішемічний інсульт супроводжувався зростанням рівня IgG на 85% через тиждень перебування у стаціонарі відносно рівня, встановленого при надходженні до лікарні.

Розвиток системного червоного вовчача, хронічної алкогольної інтоксикації та кардіоемболічного ішемічного інсульту супроводжується змінами рівня IgG у периферичній крові. За атеротромботично-

го ішемічного інсульту не було виявлено змін концентрації антитіл. Встановлено, що IgG, утворені за системного червоного вовчака, значною мірою стимулюють секреторну функцію тромбоцитів.

ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА КРОВИ И УРОВЕНЬ ЛЕПТИНА У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОЛИГОМЕНОРЕЕЙ НА ФОНЕ РАЗНОЙ МАССЫ ТЕЛА

КАШКАЛДА Д. А., УДОВИКОВА Н. А., ГУЛЯЕВА В. И.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков;
e-mail: da.kashkalda@mail.ru*

Нарушение липидного обмена является одним из важнейших диагностических признаков расстройств женской репродуктивной системы. В период пубертата нарушения менструальной функции обусловлены не только увеличением массы тела, но и ее недостатком. К патогенетическим механизмам регуляции полового развития, массы тела и состояния липидного обмена относится гормон белой жировой ткани – лептин (Л). В связи с этим целью работы было определение показателей липидного спектра крови и уровня лептина у девочек-подростков с первичной олигоменореей (ОМ I) на фоне разной массы тела.

Обследовано 40 девочек 13–18 лет с ОМ I и 46 ровестниц с регулярным менструальным циклом и соответствующим возрасту индексом массы тела (ИМТ). В сыворотке крови определяли уровень Л, общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), ХС липопротеинов высокой плотности (ХСЛПВП), ХСЛП низкой плотности (ХСЛПНП), ХСЛП очень низкой плотности (ХСЛПОНП), коэффициент атерогенности (КА). Для оценки достоверности различий использовали критерий Вилкоксона-Манна-Уитни.

Исследование показателей липидного спектра крови у пациенток с ОМ I выявило повышение уровней ТГ и ХС у 20% больных, ХСЛПНП – у 57,5%, ХСЛПОНП – у 17,5%, КА – у 10% и снижение содержания ХСЛПВП – у 12,5% по сравнению с контрольной группой. Учитывая полученные результаты было установлено, что 17,5% девочек с ОМ I имеют дислипидемию IV типа, т.е. увеличение содержания ТГ и ХСЛПОНП при нормальных или повышенных значениях ХС и ХСЛПНП. Следует отметить, что у 17,5% обследованных наблюдались избыточная масса тела, у 32,5% – ее недостаток. Установлены отличительные особенности изменений показателей липидного спектра крови и концентрации Л в зависимости от ИМТ. У девочек с избыточной массой тела регистрировалось достоверное увеличение содержания ТГ и ХСЛПОНП, снижение ХСЛПВП по сравнению с больными на фоне нормального и недостаточного ИМТ ($P < 0,03$) и со здоровыми сверстницами ($P < 0,05$). Независимо от ИМТ концентрация ХСЛПНП повышалась на 34,8–51,6% по сравнению с контрольной группой ($P < 0,0003$).

Параллельно с увеличением ИМТ, показателей липидного спектра крови атерогенной направленности, отмечалось прогрессирующее повышение содержания Л. У пациенток с недостаточным ИМТ уровень Л составлял $10,16 \pm 1,86$ нг/мл и достоверно отличался от такового у здоровых сверстниц ($P < 0,03$) и у больных с нормальным и избыточным ИМТ. Содержание Л при избыточной массе тела составляло $39,74 \pm 8,98$ нг/мл и увеличивалось в 2–2,5 раза по сравнению с контрольной группой ($15,40 \pm 1,20$ нг/мл; $P < 0,05$) и с девочками с ОМ I при нормальной массе тела ($18,11 \pm 3,05$ нг/мл; $P < 0,01$).

Таким образом, у девочек-подростков с ОМ I обнаружены существенные изменения показателей липидного обмена и уровня Л в зависимости от ИМТ. Выраженность атерогенных изменений липидного спектра крови в сочетании с увеличением содержания Л, особенно у девочек с избыточной массой тела, являются факторами повышенного риска развития атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний в будущем, что требует своевременной и эффективной коррекции метаболических изменений у девочек-подростков при данной патологии.

ПРОТЕОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ГОМОГЕНАТУ ПЕЧІНКИ ТА СЕРЦЯ ЩУРІВ ЗА УМОВ РІЗНОГО ВВЕДЕННЯ ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ

КЕЦА О. В., МАРЧЕНКО М. М.

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Україна;
e-mail: ketsa80@mail.ru*

Основою ліпідного матриксу мембран клітин є поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), що входять до складу фосфоліпідів і зумовлюють структурні й функціональні властивості мембран. Зміни жирнокислотного складу мембран можуть вплинути на конформацію протеїнів і, як наслідок, на їхні функціональні властивості. Інтерес являють два класи ПНЖК – ω -6 і ω -3. Біологічно активні речовини, які утворюються в процесі метаболізму цих двох класів ПНЖК відіграють в організмі важливу роль, однак нерідко мають протилежні властивості. Надлишкова кількість ω -6 ПНЖК і високе співвідношення ω -6/ ω -3 призводить до цілого ряду захворювань. З іншого боку, введення в організм різних видів ПНЖК може ініціювати вільнорадикальні процеси, які виражатимуться в окислювальній модифікації протеїнів. Підвищення окислювальної модифікації протеїнів може призвести до їх фрагментації або до утворення протеїнових агрегатів, що відбувається за безпосередньої дії активних форм кисню або внаслідок підвищення їх чутливості до протеолізу.

Враховуючи вищевказане метою роботи було визначити протеолітичну активність гомогенату печінки та серця щурів за диференційного введення ω -6 та ω -3 ПНЖК.

Результати досліджень показали, що введення протягом 8-ми тижнів ω -3 ПНЖК рослинного походження – α -ліноленої кислоти поряд із лінолевою кислотою не призводить до зміни протеолітичної активності гомогенату печінки та серця щурів порівняно з показниками тварин, які споживали ω -3 ПНЖК тваринного походження. Застосування раціону, який містив лише ω -6 ПНЖК збільшувало протеолітичну активність гомогенату як печінки, так і серця щурів порівняно з показниками контрольної групи на 6-й та 8-й тижень експериментальної дієти. Активність протеолітичних ензимів може підвищуватися у відповідь на інтенсифікацію окислювальної модифікації протеїнів (ОМП), що запобігає нагромадженню останніх у клітині.

Додавання до раціону препаратів збагачених ω -3 ПНЖК не змінює активність протеолітичних ензимів гомогенату печінки щурів на 4-й та 6-й тижень експерименту порівняно з показниками контрольної групи тварин, тоді як у серці протеолітична активність підвищується в 1,5 та у 1,7 раза на 4-й та 6-й тижень дієти. На 8-й тижень перебування щурів на дієті, збагаченій ω -3 ПНЖК, спостерігається підвищення протеолітичної активності гомогенату печінки в 1,7 раза, а гомогенату серця в 2,6 раза порівняно з контролем. Імовірно, для нормальної діяльності серцево-судинної системи та організму в цілому має бути оптимальне співвідношення ω -6 та ω -3 ПНЖК, тому за сильного насичення організму тільки ω -3 ПНЖК спостерігається підвищення протеолітичної активності у відповідь на ОМП субклітинних фракцій серця щурів порівняно з щурами, які отримували співвідношення ω -6 та ω -3 ПНЖК 7:1.

Відсутність ПНЖК у раціоні призводить до збільшення активності протеолітичних ензимів гомогенату печінки щурів на 4-й та 6-й тижень експерименту порівняно з показниками контрольної групи. На 8-й тижень активність протеолітичних ензимів знижується порівняно з 6-м тижнем, що може бути пов'язано з високим ступенем окислення протеїнів, у тому числі ензимів, які мають протеолітичну активність. При цьому може знижуватися протеоліз протеїнів через утворення міжмолекулярних зшивок, зниження розчинності та агрегацію. Такі агрегати акумулюються у клітинах у вигляді агрегосом, що пов'язано з розвитком патологічних станів.

Отже, моноведення ω -6 або ω -3 ПНЖК, а також відсутність ПНЖК у дієті стимулює протеолітичну активність гомогенату печінки та серця у відповідь на інтенсифікацію процесів окислювальної модифікації протеїнів.

**ПОКАЗНИКИ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ
В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ
НАДМІРНОГО ПОСТУПЛЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ**

*КІНДРАТ Г. В., ЕРСТЕНЮК Г. М., РОЖКО М. М., КІНДРАТ І. П.,
РЕПЕЦЬКА О. М., ГУРАНИЧ С. П.*

*ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Україна;
e-mail: Ira_Kindrat@i.ua*

Із характером харчування пов'язані важливі функції організму, такі як рівень здоров'я і розвиток патологічних процесів. Збалансований комплекс харчового раціону позитивно впливає на мінеральну структуру кісткової тканини. У разі порушення співвідношення макро- і мікроелементів, які поступають в організм із продуктами харчування змінюються процеси мінералізації кісткової тканини. Метою роботи було встановити характер метаболічних змін в експериментальних тварин, які знаходилися на раціоні, збагаченому сахарозою.

Для встановлення механізмів реакції організму за впливу збагаченого сахарозою раціону, було проведено дослідження на тваринах. Програма досліджень включала вивчення кальцій-фосфорного обміну, активності лужної фосфатази, концентрації оксипроліну у крові білих безпородних щурів, які склали дві групи: основна – перебувала на високосахарозній дієті ($n = 10$) і контрольна – знаходилася в умовах раціону віварію ($n = 10$). Маркери кісткового метаболізму вивчали уніфікованими методами дослідження за допомогою набору реактивів фірми Simko Ltd.

Одержані результати вказують на порушення мінерального обміну у разі тривалого і надмірного поступлення в організм щурів високої концентрації сахарози.

Так, рівень загального кальцію і неорганічного фосфору зростав у сироватці крові щурів основної групи порівняно з контрольною в 1,2 раза ($3,46 \pm 0,15$ ммоль/л) і 1,6 раза ($2,39 \pm 0,14$ ммоль/л) відповідно ($P < 0,01$). Ці результати можна пояснити порушенням процесів засвоєння кальцію за гіперглікемії, що характерно у проведеному експерименті. Окрім того, відомо, що високий рівень вуглеводів спричинює накопичення лактату і розвиток процесів демінералізації кісткової тканини, що, в свою чергу, призводить до гіперкальціємії.

Показано, що активність лужної фосфатази у сироватці крові, достовірно зростала в групі тварин з високосахарозною дієтою ($P < 0,001$). Це може свідчити про порушення функціонального стану печінки при надлишку в харчовому раціоні вуглеводів і виходом ензимів у кров. У контрольній групі тварин значення активності лужної фосфатази було низьким, а саме $3,37 \pm 0,19$ ммоль/год. Концентрація оксипроліну в сироватці крові дослідних тварин вірогідно підвищувалась за умов експериментального карієсу до $170,17 \pm 6,89$ мкмоль/л проти $120,8 \pm 6,20$ мкмоль/л у контрольній групі тварин ($P < 0,001$).

Надлишкове вживання вуглеводів зумовлює зміни обміну речовин в організмі і, відповідно, у кісткових тканинах, які ведуть до зниження мінералізації та посилення деструктивних процесів, а в подальшому до розвитку остеопорозу, каріозного ураження зубів, захворювань тканин пародонта, що необхідно враховувати при проведенні лікувально-профілактичних заходів серед населення.

ВМІСТ СІРКОВОДНЮ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ГОСТРОГО І ХРОНІЧНОГО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АРТРИТУ

¹КІТ Ю. Я., ²КРІЛЬ І. Й., ²ГАВРИЛЮК А. М., ³КОЦЮРУБА А. В.,
²ЧОП'ЯК В. В., ¹СТОЙКА Р. С.

¹Інститут біології клітини НАН України, Львів;
²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна;
³Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ;
e-mail: iryna.kril@yahoo.com

Ревматоїдний артрит – це системне захворювання сполучної тканини з переважним ураженням дрібних суглобів за типом ерозивно-деструктивного поліартриту неясної етіології зі складним аутоімунним патогенезом. Характерною ознакою РА є запальні процеси у суглобах і супутніх тканинах, що визначає важкість перебігу цього захворювання. Характерною ознакою запальних процесів є зростання вмісту в крові високомолекулярних (цитокіни, хемокіни) та низькомолекулярних (оксид азоту, простагландини, лейкотрієни) прозапальних чинників. До прозапальних чинників також належить сірководень, підвищення рівня якого в сироватці крові призводить до активації мієлопероксидази в тканинах і до зростання рівня фактора некрозу пухлин-альфа в плазмі крові. Для вивчення механізмів, залучених у розвиток ревматоїдного артрити, широко використовуються моделі на тваринах, переважно на щурах ліній Wistar або Lewis.

Метою роботи було дослідити зміни концентрації сірководню (H_2S) в сироватці крові щурів за умов гострого і хронічного експериментального артрити.

Гостре запалення зумовлювали введенням у кінцівки щурів карагеніну, хронічне – введенням колагену бика II типу (імуніндукований артрит). Концентрацію сірководню в сироватці визначали за (Svenson A., 1980).

Нами були отримано статистично достовірне підвищення концентрації сірководню в сироватці крові піддослідних щурів порівняно з інтактними щурами. При карагеніновому запаленні концентрація H_2S була в 2 рази ($207,34 \pm 37,48$ nmol/ml), а при колагеновому в 2,3 рази вищою ($225,21 \pm 34,94$ nmol/ml) порівняно із контрольною групою тварин ($97,11 \pm 5,51$ nmol/ml).

Зростання концентрації H_2S в сироватці крові щурів за гострого і хронічного запалення кінцівок свідчить про його можливу роль у розвитку ревматоїдного артрити.

РОЛЬ РЕЦЕПТОРНИХ І ЦИТОЗОЛЬНИХ ТИРОЗИНкіНАЗ У КАНЦЕРОГЕНЕЗІ *Helicobacter pylori*

КЛИМНЮК С. І., КОВАНОВА Е. М., ТВОРКО М. С.

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України», України;
e-mail: klymnuk@yahoo.com

Тирозинкіназне фосфорилування є головним механізмом канцерогенезу *Helicobacter pylori*. Вірулентні штами *Helicobacter pylori* спричиняють гіперекспресію рецептора до фактора росту клітин EGFR і, отже, можуть зумовлювати гіперактивацію рецепторних тирозинкіназ.

Фосфорилування CagA *Helicobacter pylori* супроводжується активацією цитозольних (нерцепторних) тирозинкіназ клітини родини Src і подальшою активацією спільних з EGFR сигнальних шляхів клітини, які передають сигнал в ядро. VacA також активує цитозольні тирозинкінази клітини.

Отже, під час фосфорилування може мати місце ефект надмірної активації рецепторних і цитозольних тирозинкіназ, що призводить до порушення проліферації. Враховуючи тирозинкіназний

механізм хелікобактерного канцерогенезу, перспективним є використання інгібіторів тирозинкіназ для таргетної терапії хелікобактеріозів та для зменшення ризику розвитку канцерогенезу.

ПОКАЗНИКИ ГЕМОСТАТИЧНОЇ СИСТЕМИ ЯК КРИТЕРІЙ ПРОГНОЗУ РЕЦИДИВУ ТА МЕТАСТАЗУВАННЯ У ХВОРИХ НА РАК ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

КЛИСЬ Ю. Г.

*ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О. С. Коломійченка
НАМН України», Київ;
e-mail: yulya.klys@mail.ru*

Проблема післяопераційного рецидиву та метастазування онкозахворювань становить одну з найгостріших проблем сучасної онкології. Тому актуальність пошуків молекулярних маркерів – індикаторів ризику виникнення цих ускладнень, очевидна. Особливої уваги при цьому заслуговують показники гемостатичної системи крові, оскільки відомо, що ракові клітини, на відміну від нормальних, продукують підвищену кількість специфічних протеїназ. Саме з протеолітичними ензимами системи гемостазу пов'язують здатність пухлин до інвазії і метастазування.

Численні маркери онкозахворювань мають обмежену інформативність, що зумовлює необхідність комплексного визначення кількох показників. При цьому в літературі відсутні систематизовані дані щодо комплексного вивчення компонентів систем протеолізу, зсідання крові та фібринолізу у хворих на онкологічні захворювання верхніх дихальних шляхів. Ця робота спрямована на виявлення найбільш показових зрушень компонентів системи гемостазу при ЛОР-онкологічних захворюваннях у доопераційному періоді, з'ясуванню їх діагностичної та прогностичної цінності.

Досліджено групу показників, що дають можливість порівняти їх зміни у хворих на рак гортані з відповідними нормальними значеннями. Показано їх достовірну залежність від стадії злоякісного процесу. Порівняння розглянутих показників із відповідним середнім рівнем контрольної групи свідчить про можливість створення ефективного прогностичного індексу на основі комплексного врахування доопераційних показників рівня фібриногену, амідолітичної тромбіноподібної активності та рівня α -2-макроглобуліну. Видається за доцільне впровадження адитивного числового індексу, що враховує відхилення від норми за вмістом фібриногену, α -2-макроглобуліну та від рівня тромбінподібної активності та описується формулою:

$$H = \frac{[Fg][Thr]}{[A2M]}$$

де [Fg], [Thr] та [A2M] є відношенням вмісту фібриногену, тромбінподібної активності та вмісту α -2-макроглобуліну до рівня норми. Розраховані за наведеною формулою індивідуальні показники досліджуваних хворих з подальшою побудовою відповідних числових рядів та розрахунками за методами варіаційної статистики, мали значення $6,35 \pm 1,67$ ($P < 0,05$) – для хворих з післяопераційними рецидивами та метастазуванням; $2,65 \pm 0,53$ ($P < 0,05$) – для хворих без ускладнень в розглянутому періоді. Отримані дані дають можливість прогнозувати ризик розвитку післяопераційних ускладнень та метастазування за доопераційними показниками системи гемостазу у хворих на рак верхніх дихальних шляхів.

**БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ
И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ МИАСТЕНИИ**

¹КЛИМОВА Е. М., ¹БОЙКО В. В., ¹ДРОЗДОВА Л. А.,
²СКОК М. В., ¹ЛАВИНСКАЯ Е. В.

¹ГУ «Институт общей и неотложной хирургии
им. В. Т. Зайцева НАМН Украины», Харьков;

²Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;
e-mail: klimova_elenal@list.ru

Миастения характеризуется развитием прогрессирующей мышечной слабости и морфофункциональными изменениями тимуса. Ранее считалось, что основной мишенью при миастении являются α -субъединицы ацетилхолиновых рецепторов (АХР), но существует выраженная клиническая гетерогенность данного заболевания, при которой могут быть поражены различные метаболические системы иммунонейроэндокринного комплекса. Целью данного исследования было определение спектра биохимических маркеров, характеризующих клинические фенотипы миастении.

Исследования проводили в трех группах (204 пациента): 1-я группа – пациенты с миастенией без поражения тимуса (М); 2-я группа – пациенты с генерализованной миастенией и гиперплазией тимуса (МГ); 3-я группа – пациенты с миастенией, протекающей на фоне злокачественных опухолей – тимом (МТ). Результаты исследования показали, что кислородозависимый метаболизм фагоцитирующих нейтрофилов, который оценивали по их способности поглощать нитросиний тетразол и восстанавливать его до диформаза под влиянием супероксиданиона, различен у пациентов с разными клиническими фенотипами миастении. У пациентов 1-й и 3-й групп на фоне дисбаланса кислородозависимой ферментативной бактерицидности нейтрофилов были повышены показатели спонтанного НСТ-теста (в 1,5 раза) на фоне угнетения стимулированной NADP-оксидазной реакции (в 3 раза), инициирующей фагоцитоз. А во 2-ой группе пациентов с МГ наблюдали активацию ферментных систем фагоцитов, которую вычисляли по среднему цитохимическому коэффициенту (СЦК) в спонтанном и индуцируемом тесте (в среднем в 2,5 раза выше контроля). Сывороточная концентрация лизирующего фактора – С3-фрагмента комплемента у пациентов при МГ была низкой, а у больных с МТ компенсаторно была выше референтных значений $1,1 \pm 0,2$ г/л на 20%. У больных с М и МТ наблюдали пятикратное увеличение провоспалительного ИЛ-10, а у больных с МГ – этот показатель не превышал контрольных значений $12,3 \pm 1,8$ пг/мл и в среднем составил $4,6 \pm 1,3$ пг/мл. Что касается изменения концентрации выявленных иммуноглобулиновых аутоантител, то она отличалась у пациентов 1-й и 2-й групп с М и МГ. При этих фенотипах миастении выявляли высокий титр аутоантител к нативной и денатурированной ДНК и к клеткам легких. В 3-й группе при МТ выявили высокий титр аутоантител к гепатоцитам и эластину. А у трети пациентов всех трех групп выявили наличие аутоантител к α -субъединицам АХР. Повышение титра аутоантител этого типа (в 1,7 раза) коррелировало с тяжелым осложненным течением заболевания и развитием миастенического криза. У этой категории обследованных больных выявили колебания концентрации холинэстеразы в до- и послеоперационном периоде после тимэктомии. Многократное снижение этого фермента могло быть следствием операционной травмы или антихолинэстеразной терапии, что приводило к развитию холинэргического криза. Изменение концентрации холинэстеразы коррелировало с прогрессированием миастении. Развитие комбинированного миастенического и холинэргического криза также было взаимосвязано со степенью выраженности аутоиммунного процесса на фоне увеличения аутоантител к различным клеткам, тканям, ДНК и α -субъединицам АХР. Оценка специфических биохимических маркеров, характеризующих прогрессирование миастении, развитие миастенических кризов позволяет прогнозировать возможные осложнения и проводить превентивную направленную коррекцию этих нарушений.

**БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ
У ЩУРІВ НОВИХ ПРОТИПУХЛИННИХ ПОХІДНИХ
4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ І ДОКСОРУБІЦИНУ У КОМПЛЕКСАХ
ІЗ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЬВМІСНИМ ПОЛІМЕРНИМ НОСІЄМ**

¹КОБИЛІНСЬКА Л. Л., ²ЗАІЧЕНКО О. С., ¹ЛЕСИК Р. Б., ³СТОЙКА Р. С.

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна;

²Національний університет «Львівська Політехніка», Україна;

³Інститут біології клітини НАН України, Львів;

e-mail: lesya8@gmail.com

Продовжується пошук нових засобів хіміотерапії пухлин, оскільки більшість фармацевтичних препаратів, які застосовують в онкологічній практиці, характеризуються гепато-, кардіо-, нефро- і нейротоксичною побічною дією. Одним із шляхів для підвищення адресності дії протипухлинних препаратів і зниження загальної токсичної дії в організмі може бути їхня доставка за допомогою спеціальних нанорозмірних носіїв.

Мета роботи – вивчити показники активності ензимів і концентрації метаболітів у щурів, що відображають токсичну дію нових похідних 4-тіазолідинонів (3882, 3288, 3833), які продемонстрували антинеопластичний ефект *in vitro*, порівняно з дією відомого протипухлинного препарату доксорубіцину, а також за умов кон'югації вказаних речовин із полімерним поліетиленглікольвмісним носієм.

Дослідження проводили на лабораторних щурах з масою 200–220 г. Препарати вводили тваринам щоденно доочеревино, починаючи із дози 5,5 мг/кг протягом 10 днів. Згідно зі схемою введення препаратів сформовано 10 груп тварин: 1 – контроль (інтактні щури); 2 – доксорубіцин; 3, 4, 5 – синтетичні сполуки 3882, 3288, 3833 відповідно; 6 – комплекс полімерного носія із доксорубіцином; 7, 8, 9 – комплекс полімерного носія із сполуками 3882, 3288, 3833, відповідно; 10 – полімерний носій. Визначали активність α -амілази, аспаратамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), креатинфосфокінази (КФК), лактатдегідрогенази (ЛДГ), лужної фосфатази (ЛФ), гамаглутамілтрансферази (ГГТ), а також концентрацію загального протеїну, сечовини, креатиніну із використанням стандартних тест-наборів для автоматичного біохімічного аналізатора Humalyzer 3000 (Німеччина).

За дії антинеопластичних сполук активність трансаміназ зростає після введення усіх сполук: для АсАТ – у 2 групі – на 87%, у 3, 4, 5 – на 22–29%; АлАТ – у 2 групі – на 41%, у 3 – на 35%, 4 – на 75%, 5 – на 4%, порівняно з контролем. Подібне зростання спостерігали для КФК, ЛФ і α -амілази. Деяко нижча амплітуда зростання виявлена для активності ЛДГ, а у 5 групі встановлено її зниження на 33%. Активність ГГТ зростає у 4 рази після введення доксорубіцину і у 2,5 рази – за дії сполуки 3833.

За впливу протипухлинних препаратів у комплексі з полімерним носієм встановлено зниження активності досліджуваних ензимів, порівняно з дією самих антинеопластичних сполук. Спостерігали зменшення амплітуди зростання активності АсАТ, АлАТ, нормалізацію активності α -амілази та ГГТ, і навіть незначне зниження активності ензимів ЛДГ і КФК у 7-, 8- і 9-й експериментальних групах. Встановлено повернення до нормальних показників концентрації загального протеїну, сечовини, креатиніну у 6-, 7-, 8-, і 9-й групах, порівняно з введенням цих препаратів без полімерного носія. Характерним для 10-ї групи було підвищення активності ЛФ у 2,8 рази і ГГТ – на 35% при впливі полімерного носія.

Нижча антинеопластична активність нових синтетичних похідних 4-тіазолідинонів 3882, 3288 і 3833 порівняно з такою активністю доксорубіцину корелює із нижчою токсичністю цих похідних у щурів. Сполуки 3882, 3288, 3833 і доксорубіцину у комплексі з поліетиленглікольвмісним полімерним носієм знижують їхню токсичність у щурів за показниками активності АсАТ, АлАТ, КФК, ЛДГ, ЛФ, ГГТ, що сприяє нормалізації протеїнового обміну у щурів.

МОДЕЛЮВАННЯ ШЛЯХІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ПРОТЕЇНІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ХВОРОБІ НИРОК *IN VITRO*

КОРОЛЬ Л. В.

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ;
e-mail: lesyakorol@meta.ua

Останнім часом увага дослідників прикута до вивчення механізмів розвитку оксидативного стресу (ОС), що виникає при порушенні балансу між про-/антиоксидантними процесами за різних патологічних станів. Одним із аспектів багатогранної медико-біологічної проблеми ОС є вивчення органо- і тканинспецифічних механізмів його активації та інгібування, а також розробки шляхів його корекції, особливо при хворобах нирок. Несвоєчасне блокування оксидативних реакцій посилює негативну дію пероксидів на мембрани ниркових клітин, що призводить до хронізації та загострення патологічного процесу в нирках. У цій роботі у зразках крові 82 хворих на хронічну хворобу нирок (ХХН) I–II стадії визначали базове накопичення продукту пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) малонового діальдегіду (МДА) та його концентрацію при моделюванні *in vitro* Fe-індукованого ензиматичного та неензиматичного шляхів ПОЛ у спеціальних інкубаційних середовищах.

Для моделювання ензиматичного шляху до інкубаційного середовища вносили 25 мМ трис-НСІ буфер (рН 7,4), 0,5 мкМ NADPH, 2 мкМ нікотинаміду, 4 мкМ ADP, 20 мкМ FeSO₄, а для неензиматичного 25 мМ трис-НСІ буфер (рН 7,4), 20 мкМ FeSO₄ та 0,35 мг аскорбінової кислоти. Окисну модифікацію протеїнів характеризували за вмістом карбонільних груп (КГ) протеїнів крові в дослідних зразках по реакції взаємодії окислених амінокислотних залишків із 2,4-динітрофенілгідразином із утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів. Для визначення металкаталізуемого утворення КГ у проби додатково додавали 1 мМ Fe²⁺ і 1 мМ ЕДТА і 10 мМ Н₂O₂. Кров для дослідження брали з ліктьової вени вранці після 12-годинного голодування. Контролем слугували результати аналогічного експерименту *in vitro* у зразках крові 30 практично здорових осіб того ж віку та статі.

Встановлено, що у пацієнтів з ХХН базовий вміст МДА в еритроцитах зростав у 1,2 раза ($P = 0,002$) та в сироватці крові в 1,6 раза порівняно з аналогічними показниками у контрольній групі ($P < 0,01$). Базовий рівень КГ протеїнів у сироватці крові зростав майже у 1,6 раза ($P < 0,02$) порівняно з контрольною групою. За моделювання неензиматичного шляху активації ПОЛ (додавання до інкубаційного середовища FeSO₄ та аскорбату) вміст МДА в еритроцитах збільшувався у 1,5 раза порівняно з аналогічними показниками у контрольній групі ($P < 0,01$), а в сироватці крові статистично достовірного зростання показника вмісту МДА не спостерігалось порівняно з аналогічним показником у контрольній групі. Вміст КГ протеїнів у зразках крові за таких умов збільшувався на 22% ($P < 0,02$) у порівнянні з аналогічними показниками у контрольній групі. У разі введення до інкубаційного середовища FeSO₄, NADPH₂, нікотинаміду та ADP, відмічено інтенсивніше утворення МДА в еритроцитах у 1,6 раза порівняно з контрольною групою ($P < 0,01$), а в сироватці крові рівень МДА збільшувався у 2,2 раза порівняно з показниками у контрольній групі ($P < 0,02$) за таких же умов. При цьому базовий вміст КГ протеїнів збільшувався на 30% ($P < 0,02$), а металіндукований – на 45% порівняно з аналогічними показниками у контрольній групі.

Отже, при ХХН у крові пацієнтів активація процесів ПОЛ та пероксидного окислення протеїнів відбувається ензиматичним і неензиматичним шляхами, проте перший шлях більш активний, що необхідно враховувати при корекції оксидативних процесів у пацієнтів із ХХН та під час призначення антиоксидантної терапії.

**ВПЛИВ МУЛЬТИПРОБІОТИКА «АПІБАКТ» НА РОЗВИТОК
ЗАПАЛЕННЯ ТА ОКСИДАТИВНОГО/НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСУ
В ШЛУНКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ШЛУНКОВОЇ
ГІПОАЦИДНОСТІ**

КОРОТКИЙ О. Г., ПИЛИПЕНКО С. В., БЕРЕГОВА Т. В.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології», Україна;
e-mail: korotky@ukr.net*

Тривала шлункова гіпоацидність є одним з основних факторів ризику канцерогенезу в шлунку. Метою роботи було дослідити вплив мультипробіотика «Апібакт» (АП) на концентрацію прозапальних цитокінів у сироватці крові та показники антиоксидантного захисту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов тривалої гіпохлоргідрії.

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях з початковою вагою 180–200 г, які були розділені на 4 групи. Всі препарати були розчинені у воді для ін'єкцій і вводились щурам щоденно протягом 28 днів. Тваринам першої (контрольної) групи вводили інтраперитоніально та перорально воду для ін'єкцій. Щурам другої групи перорально вводили АП («О.Д.Пролісок», Україна) в дозі 0,14 мг/кг. Тривалу шлункову гіпоацидність у щурів третьої групи спричинювали інтраперитоніальним введенням «Омезу» («Dr.Reddy's», Індія) у дозі 14 мг/кг. Щурам четвертої групи одночасно вводили «Омез» та АП. Через добу після останнього введення препаратів проводили аналіз видового та кількісного складу мікрофлори шлунка; в сироватці крові визначали радіоімунним методом концентрацію гастрину, імуноензимним методом концентрацію прозапальних цитокінів (IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-6); у гомогенаті слизової оболонки шлунка флюорометричним методом вміст відновленого глутатіону та спектрофотометрично вміст ТБК-активних продуктів і нітрит-іонів, а також вимірювали активність каталази, супероксиддисмутази, NO-синтази, глутатіонзалежних пероксидази, трансферази та редуктази.

За тривалої гіпохлоргідрії в шлунку розвивалася гіпергастринемія та дисбактеріоз, збільшувався вміст ТБК-активних продуктів і нітрит-іонів, підвищувалася NO-синтазна, каталазна, супероксиддисмутазна активність, зменшувався вміст відновленого глутатіону та глутатіонпероксидазної, глутатіонтрансферазної, глутатіонредуктазної активності, а також призводила до значного зростання концентрації IL-1 β , IFN- γ , TNF- α та не змінювала концентрацію IL-6 в сироватці крові. Введення АП за умов тривалої шлункової гіпоацидності попереджало розвиток дисбактеріозу, знижало рівень ТБК-активних продуктів і нітрит-іонів, NO-синтазну, супероксиддисмутазну активності, нормалізувало вміст відновленого глутатіону та каталазну, глутатіонзалежні пероксидазну, трансферазну та редуктазну активності в шлунку, знижувало концентрації IL-1 β , IFN- γ , TNF- α та не змінювало концентрації гастрину та IL-6 в сироватці крові.

Таким чином, тривала шлункова гіпоацидність викликає гіпергастринемію та дисбактеріоз, і, як наслідок, – розвиток запалення та зниження антиоксидантного захисту в шлунку. Мультипробіотик АП попереджає розвиток дисбактеріозу та сприяє зниженню запалення та оксидативного/нітрозативного стресу в шлунку.

DNA REPAIR IN MGMT-PROFICIENT AND MGMT-DEFICIENT HUMAN CELLS *IN VITRO*

*KOTSARENKO K. V., STOLIAR O. A., LYLO V. V., RUBAN T. P.,
MACEWICZ L. L., LUKASH L. L.*

*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: kotsarenko_k@mail.ru*

Tumor cell resistance to damaging effect of alkylating chemotherapy is often caused by action of DNA repair enzyme O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT). The aim of our work was to compare sensitivity of MGMT-deficient and MGMT-proficient cells to the action of some alkylating drugs.

Such human cell lines were used: Hep-2 (laryngeal cancer) and 4BL (mesenchymal stem cells) generated in our laboratory. Such alkylating preparations with different chemical structures were used: methylnitrosoguanidine (MNNG) (synthesized by Dr. A. Terentyev), Amitozyn (provided by Dr. A.I. Potopalsky) and commercial preparations Temodal, Lomustine, Mustophoran and Cisplatin. Western-blot analysis and RT-PCR were used for the detection of *MGMT* gene expression. Cell survival was analyzed by MTT and colony-forming ability.

It was shown by Western blot and PCR analyses that Hep-2 cells express *MGMT* gene but 4BL cells are lack of this expression. Nevertheless MTT assay showed that therapeutic doses of Lomustine, Mustophoran and Cisplatin were not toxic for MGMT-deficient 4BL cells. Moreover cell colony-forming ability showed similar character of concentration dependence for Temodal and Amytozyn in Hep-2 and 4BL cells. At low doses of these preparations (for Temodal - 20-200 μ M and 0.2-2 μ M in Hep-2 and 4BL cells respectively; for Amitozyn – 0.2-200 μ g/ml) the concentration dependence was not linear and had a threshold, indicating that repair process occurs in both cell lines. But at higher concentrations (for Temodal - 1000 μ M and 20 μ M in Hep-2 and 4BL cells respectively; for Amitozyn - 2000 μ g/ml) there was a sharp decrease in the number of cell colonies that may be explained by the repair enzyme depletion. In contrast to these agents MNNG had pronounced cytostatic and cytotoxic effects on 4BL cells, but the treatment of Hep-2 cells with this drug at the same concentrations did not lead to the significant changes in cell viability. Possible explanation for the stability of 4BL cells to alkylating agents might be caused by action of the protein which had been detected by monoclonal anti-MGMT antibodies. It has high homology to MGMT protein and higher molecular weight (48 kDa).

MGMT-deficient 4BL cells resistance to the therapeutic doses of number of alkylating preparations was comparable with MGMT-proficient cell resistance. This fact may suggest the involvement of repair systems other than MGMT enzyme in the protection of 4BL cells against damaging action of alkylation agents.

МЕХАНІЗМИ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

КРАВЧЕНКО Г. Б., ЗАГАЙКО А. Л., КРАСІЛЬНИКОВА О. А.

*Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна;
e-mail: biochem@ukrfa.kharkov.ua*

Інсулінорезистентність часто супроводжується розвитком мітохондріальної дисфункції в тканинах, чутливих до інсуліну (скелетна мускулатура, жирова тканина, паренхіма печінки та ін.) (J.-a Kim et al., 2008; C. Yang et al., 2012). Інсулінорезистентність стимулює ліполіз у жировій тканині, таким чином, в крові зростає вміст вільних жирних кислот (ВЖК), які поглинаються печінкою, що запобігає цитотоксичній дії ВЖК. За їх накопичення в гепатоцитах активується синтез триацилгліцеролів (ТГ) та знижується надходження ВЖК до мітохондрій (E. Bugianesi et al., 2005; B.-J. Song et al, 2013;

J. S. Teodoro et al., 2013). Зростання рівня ТГ у крові призводить до розвитку абдомінального ожиріння та проатерогенезу. Разом з тим, дані літератури щодо зміни активності мітохондріальних ензимів за інсулінорезистентності, нечисленні та суперечливі. Метою нашого дослідження було вивчення можливих механізмів розвитку мітохондріальної дисфункції за умов інсулінорезистентності.

Дослідження проводили на білих щурах, які були поділені на дві групи: тварини експериментальної групи протягом 4-х тижнів утримувалися на дієті з високим вмістом фруктози (HFD), тварини контрольної групи утримувалися на стандартному раціоні віварію. По закінченні експерименту було проведено дослідження дихального коефіцієнту мітохондрій печінки, спектрофотометрично визначена активність сукцинатдегідрогенази (SDH), ізоцитратдегідрогенази (IDH), довголанцюгової-3-гідроксиацил-коензим А дегідрогенази (LCHAD), довголанцюгової кетоацил-коензим А тіолази (LCTH) та коротколанцюгової гідроксиацил-коензим А дегідрогенази (SCHAD) в мітохондріальній фракції гепатоцитів. У сироватці крові та гомогенаті печінки стандартними методами визначали вміст ВЖК, ТГ, холестеролу (ХС) та проводили глюкозотолерантний тест (ГТТ).

Показано, що HFD зумовлювало зміни досліджених показників у сироватці крові та гомогенаті печінки, які характерні для стану інсулінорезистентності, зокрема достовірне збільшення вмісту ВЖК у крові. ГТТ продемонстрував, що у тварин експериментальної групи рівень глюкози знижувався дуже повільно в порівнянні з таким у тварин контрольної групи, що є свідченням зниження толерантності до глюкози. Це супроводжувалося достовірним зниженням активності ензимів мітохондрій печінки щурів, які забезпечують окислення жирних кислот (ЖК): LCHAD, LCTH та SCHAD, що свідчить про пригнічення цього процесу у тварин. Також встановлено достовірне зниження активності SDH та IDH, які як ензими циклу трикарбонових кислот зв'язують окислення жирних кислот та тканинне дихання, поставляючи електрони до респіраторних комплексів, тому пригнічення їхньої активності призводить до порушення окислення ЖК та порушення балансу між окисленням, синтезом та експортом ЖК.

Таким чином, ми припускаємо, що серед механізмів формування мітохондріальної дисфункції при інсулінорезистентності провідна роль належить зниженню активності окислювальних процесів у мітохондріях, що може бути пусковим механізмом апоптозу та деградації паренхіми печінки, та спричинюють такі розповсюджені ускладнення інсулінорезистентності, як стеатогепатит та абдомінальне ожиріння.

ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НЕЙТРОФІЛІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ТА ХРОНІЧНОГО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ АРТРИТІВ

¹КРИЛЬ І. Й., ²КИТ Ю. Я.

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна;

²Інститут біології клітини НАН України, Львів;

e-mail: iryna.krill@yahoo.com

Центральною проблемою сучасної ревматології є зростання захворюваності на ревматоїдний артрит (РА). Для моделювання запальних процесів широко використовуються тваринні моделі. Тому метою даної роботи було визначити функціональні зміни, які відбуваються в експериментальних тварин за умов індукованих карагеніном (гострий) та колагеном бика II типу (хронічний) експериментальних артритів.

Визначали поглинальну здатність нейтрофілів у експериментальних тварин у тестах спонтанного та стимульованого фагоцитозу, активність окислативного вибуху (спонтанного та стимульованого) методом проточної цитометрії та концентрацію ряду вільних кисневих радикалів у сироватці крові цих тварин. У результаті наших досліджень встановлено достовірне ($P < 0,05$) зростання спонтанної фагоцитарної активності нейтрофілів лише в щурів на моделі карагенінового артрититу (16,9%) порівняно з показниками колагенового артрититу (12,9%) та контрольними значеннями (9,2%), що гово-

рять про виражену активацію цих клітин. Що стосується показників стимульованого фагоцитозу, то спостерігалось достовірне ($P < 0,05$) зниження активності більш виражене при карагеніновому артриті (60,1%), ніж за колагенового (69,9%), порівняно з інтактними щурами (96,4%), що може свідчити про низьку резервну здатність нейтрофілів.

Спонтанна активність оксидативного вибуху без стимуляції нейтрофілів була достовірною ($P < 0,05$) вищою як при колагеновому, так і при карагеніновому артриті відповідно у 2,75 та 2 рази порівняно з інтактними щурами. Що стосується стимульованого *E. coli* оксидативного вибуху, то не спостерігалось достовірної різниці відносних показників у дослідних групах, порівняно з контрольною ($P > 0,05$). Ослаблення процесів перетравлення у нейтрофілах свідчить про підвищений ризик розвитку бактерійних інфекцій, а це в подальшому може призвести до автоімунізації.

У результаті оксидативного вибуху утворюються вільні кисневі радикали, серед яких особливо токсичний вплив на мембрани клітин здійснюють малоновий діальдегід, гідроксильний радикал, супероксидний радикал та гідрогену пероксид. Отримані нами результати показали, що у щурів із експериментальним колагеновим та карагеніновим артритом всі досліджувані показники є статистично достовірною ($P < 0,05$) вищими у порівнянні з контрольною групою. Результати вищевказаних реактивних форм кисню підтверджують високу готовність до формування фіброзних змін (а, значить, і втрати функції суглоба) у експериментальних тварин при колагеновому артриті та можливості переходу з гострого у хронічний стан захворювання при карагеніновому.

Вивчено функціональний стан нейтрофілів у щурів на експериментальних моделях карагенінового та колагенового артритів. Встановлені достовірні зміни спонтанної фагоцитарної активності нейтрофілів лише в щурів на моделі карагенінового артрити. Під час стимульованого фагоцитозу спостерігалось достовірне зниження активності більш виражене при карагеніновому артриті, ніж при колагеновому. Досліджено спонтанну та стимульовану активність оксидативного вибуху: спонтанна стимуляція спричинювала підвищення показників, а стимуляція *E. coli* не виявляла змін показників у дослідних групах, порівняно з контрольною. У експериментальній групі тварин виявлено підвищену концентрацію вільних кисневих радикалів порівняно з контролем.

EFFECT OF AN AQUEOUS EXTRACT OF *Phaseolus vulgaris* PODS ON BLOOD GLUCOSE AND BODY WEIGHT IN DIABETIC RATS

KYZNETSOVA M., DOVGUSHA O., HALENOVA T., SAVCHUK O.

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

Diabetes mellitus is the most frequent endocrine disease in developed countries. Despite a variety of approaches diabetes remains difficult for therapy. In the last few years, there has been a renewed interest in research that investigates the potential benefits of herbal treatment in the management of this disease. *P. vulgaris*, commonly known as kidney bean, have been extensively used in traditional medicine for the diabetes therapy. Although the exact mechanism of its antidiabetic action is not fully understood and requires further research. The aim of this study was to investigate the ability of the aqueous extract of pod of bean (*P. vulgaris*) to affect on the blood glucose and body weight in streptozotocin induced diabetic rats.

A total of 24 female non-linear rats (100–120 g) were used in the study. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ, 45 mg/kg bwt) dissolved in a 0.01 M citrate buffer, pH 4.5. Control group was injected with 0.01 M citrate buffer, pH 4.5. Rats were treated orally (by gavage) with distilled water or fresh prepared aqueous solution of *P. vulgaris* pods extract (200 mg/kg bwt/day) for 28 days. During the experiment all animals were fed with standard commercial food and water available ad libitum. Animals were divided into four groups of 6 rats each: group 1, normal control (distilled water); group 2, normal + extract; group 3, diabetes control (distilled water); group 4, diabetes + extract. The levels of blood glucose and body

weight were evaluated weekly after 4 hour of fasting. Blood samples were obtained through puncture of the tail vein and glucose concentration was detected by glucometer («Hlyukofot II», Ukraine).

The obtained results suggest that administration of the plant extract did not affect blood glucose concentration in control animals. It was established that at the end of the experiment blood glucose level in group 2 was similar to their initial indicators and was not different statistically compared with group 1. At the beginning of the experiment the rate of glucose in diabetic animals exceeded relevant control values in 6 times (31.2 ± 2.5 mmol/L vs 5.5 ± 0.7 mmol/L). During the experiment in group 3 glucose level remained elevated and at 28 day was in 6 times higher compared with group 1. On the other hand in group 4 blood glucose level constantly decreased and at 28 day was lower by 63% than values at the beginning of the experiment (11.4 ± 2.7 mmol/L vs 31.1 ± 2.5 mmol/L), but was in 2 times higher compared with group 2.

The change of body weight was examined under the oral administration of bean extract to normal and STZ-induced diabetic rats. Throughout the study for normal rats positive weight gain (2.1 g per day) was observed. At 28 day of the experiment in group 3 body weight decreased by 17%, by contrast to this in group 4 body weight increased by 11% compared with values before treatment. It worth to say that in group 4 weigh gain was lower than in group 2 (1.1 g per day vs 2.1 g per day).

On the basis of these observations, it is clear that the *P. vulgaris* pod extract possessed antihyperglycemic activity and had a positive influence on the body weight in diabetic rats. In our opinion further research should be focused on analysis of the components of the *P. vulgaris* aqueous extract and identification of active constituents that had beneficial effects on metabolic abnormalities in diabetic rats.

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ХЛОРИДУ КАДМІЮ НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ

КУРАС Л. Д., МЕЛЬНИЧУК Л. В.

*Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
e-mail:lileya83@mail.ru*

Антропогенне забруднення навколишнього середовища важкими металами зумовлює серйозну стурбованість своїми наслідками для здоров'я людини та тварин. Потрапивши до організму з продуктами харчування, питною водою та повітрям, важкі метали накопичуються в органах і тканинах, обумовлюючи в них зміну природного спектра вмісту мікроелементів, порушення водно-солевого, протеїнового, вуглеводного обмінів. Серед важких металів, кадмій – один з найтоксичніших елементів, який, має високу здатність накопичуватися в різних органах та тканинах, переважно в печінці та нирках і відрізняється інтенсивною конкурентною взаємодією з іншими двовалентними металами в структурі біологічно активних сполук. Однак, на сьогоднішній день недостатньо вивчені особливості порушень енергетичного обміну в організмі людей та тварин за умов впливу сполук кадмію. Метою нашого дослідження було вивчення активності ензимів енергетичного обміну в плазмі крові, еритроцитах та органах (печінці, серці та головному мозку) експериментальних тварин за впливу хлориду кадмію.

Інтоксикацію моделювали наступним чином: хлорид кадмію (CdCl_2) вводили внутрим'язово в дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$. Інтактні (контрольні) тварини отримували відповідну кількість 0,9% розчину хлориду натрію. Дослідження проводили на нелінійних щурах-самцях масою тіла 150–220 г. Забір матеріалу здійснювали згідно правил Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин під легким ефірним наркозом на 1-у, 14-у і 28-у доби після завершення введення ксенобіотиків. Активність ензимів: Na^+ , K^+ -активуючої, Mg^{2+} -залежної АТРази, лактатдегідрогенази (ЛДГ) та α -кетоглутаратдегідрогенази визначали спектрофотометрично.

Проведені дослідження дозволили встановити відмінності активності ензимів у тварин, які отримували хлорид кадмію відносно показників контрольної групи. Зокрема, внаслідок активації завершальних ланок анаеробного гліколізу спостерігалось значне зростання активності ЛДГ на 14-у

добу у плазмі крові та її зростання впродовж експерименту в еритроцитах – у 2,5 рази. В органах спостерігалось зниження активності ЛДГ: протягом усього періоду у печінці (у 3–8 разів) та серці (в 4–7 разів); а у головному мозку – на 1-у добу зростання в 4 рази і на 14-у, 28-у доби – зниження в 2–4 рази. Дослідження активності α -кетоглутаратдегідрогенази показали зниження у плазмі крові – в 6 раз на 1- та 14-у доби, а також зростання в головному мозку – у 2,5–4 рази, серці – у 2,5–3 рази і печінці у 10–15 разів. Активність АТРази значно зростала на 1-у добу у плазмі крові, а в органах спостерігалось значне зниження активності ензиму протягом усього періоду дослідження. Сукупність одержаних даних вказує на те, що найбільш суттєві зміни проявлялись у тварин, які піддавались впливу хлориду кадмію на 1- та 14-у доби. Аналіз отриманих даних засвідчує розвиток гіпоксії за умов дії досліджуваного ксенобіотика.

Зважаючи на це, актуальними є подальші дослідження в напрямку поглибленого вивчення впливу ксенобіотиків на енергетичний обмін в експериментальних тварин та пошук засобів для профілактики і корекції виявлених порушень.

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОНООКСИГЕНАЗНОЙ СИСТЕМЫ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ СУБТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛАПРОКСИДОВ

КУЧЕРЯВЧЕНКО М. А.

*Харьковский национальный медицинский университет, Украина;
e-mail: Shevtsova_marina@ukr.net*

Особенностью монооксигеназной системы является ее способность к индукции под влиянием многих химических агентов экзо- и эндогенного происхождения. Индукция носящая приспособительный характер ускоряет выведение химических соединений из организма. Основной структурно-функциональной единицей осуществляющей эти процессы, является эндоплазматическая сеть гепатоцитов, а именно энзиматическая система микросомальной мембраны, участвующая в детоксикации неполярных химических веществ к которым человек эволюционно не адаптирован. При этом особый интерес представляют исследования метаболических процессов в микросомах экспериментальных животных, которые подвергались длительному субтоксическому воздействию вредных химических соединений. Целью работы было изучение влияния лапроксидов в субтоксических дозах на метаболическую активность микросом гепатоцитов в условиях подострого токсикологического эксперимента.

Объектом исследования была выбрана новая группа химических веществ, имеющая товарное название «лапроксиды» с регламентированными физико-химическими свойствами. К этим веществам относятся эпоксидсодержащие олигоэфиры: этиленгликольпропиленэпоксид с молекулярной массой 500 (Л-500) и триглицидиловый эфир полиоксипропилентриола молекулярной массы 303 (Л-303). Данные вещества широко используются в различных отраслях народного хозяйства для получения пластмасс, пенопластов, эпоксидных смол, лаков, клеев и др. Экспериментальная часть работы выполнялась на белых крысах популяции Вистар, которым ежедневно, на протяжении 45 дней, утром натощак вводились перорально, с помощью металлического зонда водные растворы олигоэфиров в дозах 1/10; 1/100 и 1/1000 ЛД₅₀. Контрольной группе вводились соответствующие объемы питьевой воды.

Изучали влияние эпоксидсодержащих олигоэфиров на две микросомальные электронно-транспортные системы: NADP·H – связанную с цитохромом P450 в качестве конечного звена и NAD·H – систему связанную с цитохромом b₅ в качестве акцептора электронов. Исследовали такие параметры микросомального окисления как, дыхательная активность, содержание цитохромов P450 и b₅, активность редуктаз. В качестве субстрата микросомальной P450-зависимой системы использовали р-нитроанизол – ксенобіотик, подвергающийся окислительному деметилированию с образованием р-нитрофенола, обладающего характерным спектром поглощения в щелочной среде. В работе использовали такие параметры микросомального окисления как, активность O-деметилазы, NADP·H-

цитохром С-редуктазы, NAD·H-цитохром С-редуктазы, шкорусть ендогенного дыхання микросом, шкорусть окислення NADP·H, шкорусть окислення NADP·H в присутствии ЭДТА, шкорусть пероксидного окислення липидов и содержание цитохромов P450 и b_5 .

Изучение влияния субтоксических доз эпоксидсодержащих олигоэфиров на структурно-метаболическое состояние монооксигеназной системы микросом гепатоцитов выявило усиление всех исследуемых параметров микросомального окисления в дозе 1/100 ЛД₅₀ и значительное их снижение у групп животных токсифицированных 1/10 ЛД₅₀. Доза 1/1000 ЛД₅₀ не влияла на состояние гидроксилующей системы детоксикации чужеродных химических соединений.

ВПЛИВ ЕНЕРГЕТИЧНИХ НАПОЇВ НА ПЕРЕБІГ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

ЛИТВИНЮК Н. І., СЛОБОДЯН З. О., ПАРЦЕЙ Х. Ю.

*Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
e-mail: moisejvahrustuna@inbox.ru*

Енергетичні безалкогольні напої – це енергетики, енерготоніки, у рекламній кампанії яких робиться акцент на їхню здатність стимулювати центральну нервову систему людини. Напої містять тонізуючі речовини, найчастіше кофеїн (у деяких випадках, замість кофеїну екстракти гуарани) та інші стимулятори: теобромін і теофілін, вітаміни, глюкозу, таурин. Окрім того, туди входять великі дози досі невивчених біологічно активних речовин, які можуть обумовлювати певні несприятливі ефекти: порушення сну, втрату пам'яті, надмірне немотивоване збудження, тахікардію, підвищення артеріального тиску, аритмію, нудоту, стан депресії, судоми та інше. До відомих енергетичних напоїв відносяться – RED BULL, BURN, Non Stop та інші. На сьогоднішній день недостатньо вивчений вплив енергетичних напоїв на метаболічні процеси, зокрема енергетичний обмін та антиоксидантний захист організму, що спонукало до вивчення метаболітів вуглеводного та ліпідного обміну.

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар, з масою тіла 150–220 г. Тварини були розділені на 4 групи: 1-а – тварини (самці), які отримували енерготонік; 2-а – тварини (самки), які отримували енерготонік; 3 і 4-а групи – тварини (самці та самки), які отримували очищену воду. Дослідні тварини отримували напій у кількості 30 мл. Дозу розраховували відносно маси тіла та добової потреби у рідині. Забір матеріалу проводили під легким ефірним наркозом на 30-у добу експерименту. Концентрацію глюкози визначали глюкозооксидазним методом; піровиноградної кислоти – за кількістю похідних 2,4-динітрофенілгідразону; молочної кислоти за реакцією з параоксидифенілом, триацилгліцеролів та загального холестеролу – ензиматично-колориметричним методом. Активність лактатдегідрогенази та каталази визначали ензиматичним методом. Показники пероксидного окислення ліпідів оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів. Встановлено, що на 30-у добу після вживання енергетичного напою у крові тварин спостерігались наступні зміни показників вуглеводного обміну: рівень глюкози зростав від 1,3 (самки) до 1,6 (самці) раз; концентрація лактату у самців знижувалась у 1,7 раз, а у самок – збільшувалась у 1,6 раз; у самців рівень пірувату майже не змінювався, спостерігали незначне збільшення його концентрації у самок – у 1,1 раз. Активність лактатдегідрогенази у самців знижувалась на 65%, у самок збільшувалась на 48%. Також відмічали тенденцію до збільшення показників ліпідного обміну: рівень триацилгліцеролів зростав у 6,3 раз; показник загального холестерину – у 5 разів. При визначенні ТБК-активних продуктів в еритроцитах крові дослідних щурів спостерігалось підвищення цього показника, відносно контролю в 1,2 раз. Показники активності каталази були такими: в еритроцитах крові в дослідній групі спостерігалось зниження активності цього ензиму в 1,4 раз, відносно контролю.

Отримані дані вказують на порушення процесів обміну вуглеводів та ліпідів, активацію пероксидації ліпідів та зниження антиоксидантного захисту в еритроцитах тварин, що отримували енергетичний напій. Такі результати відкривають перспективу подальшого дослідження енергонапоїв і оцінки їх впливу на організм людини.

ЗМІНИ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ОРГАНАХ СТАРЕЧИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ НІТРИТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

ЛИХАЦЬКИЙ П. Г., ФІРА Л. С.

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»;
e-mail: luhatsky@mail.ru, ludafira@mail.ru*

Зростання продукції з умістом нітратів, вищим за ГДК, та її використання являє небезпечну загрозу у зв'язку зі збільшенням нітрат-нітритного навантаження на організм людини. Надходження нітратів до організму у високих дозах спричинює різноманітні порушення метаболізму: метгемогобінемію, тканинну гіпоксію, зниження активності антиоксидантного захисту, імунної резистентності організму. Мішень дії великих доз нітратів та продуктів їх відновлення (нітритів) – ядра гепатоцитів і нуклеїновий обмін. Метою роботи було вивчити активність ензиматичної ланки та динаміку змін неензиматичної ланки антиоксидантної системи в органах старечих щурів за умов введення нітриту натрію.

Експерименти проводили на білих безпородних щурах 18-місячного віку з масою тіла 300–320 г. Нітрит натрію тварини отримували з розрахунку 45 мг/кг маси тіла, який вводили у вигляді водного розчину інтрагастрально. Токсикант тварини отримували один раз на добу протягом двох днів. Забій тварин здійснювали під тіопенталовим наркозом через 24 та 72 год від початку експерименту. Всі експерименти виконувались з дотриманням Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

Встановлено, що через 24 та 72 год від останнього введення нітриту натрію пригнічується активність антиоксидантної системи. Це проявляється зниженням показників ензиматичної та неензиматичної ланки у сироватці крові, печінці та нирках старечих тварин. Відмічено зниження активності супероксиддисмутази в сироватці крові та печінці щурів через 24 у 1,2 раза, через 72 год активність СОД ще більше зменшується (в 1,2 та 1,3 раза відповідно). У нирках уражених тварин активність цього ензиму незначно знижується тільки через 72 год від початку експерименту. Аналогічна тенденція до зниження відмічена при вивченні каталазної активності. Найбільшого пригнічення активність каталази зазнала у сироватці крові (в 2 рази) нижче контролю, у печінці – до кінця експерименту вона знизилась в 1,8 раза. У нирках каталазна активність залишалась на рівні норми протягом 72 год. Дослідження вмісту церулоплазміну у сироватці крові щурів, яким вводили нітрит натрію показало його зниження в 1,3 раза через 24 год і 1,5 раза через 72 год. Найчутливішим до дії нітриту натрію був відновлений глутатіон, вміст якого у сироватці крові до кінця експерименту знизився у 2,5 раза, у печінці – в 3 рази та у нирках – у 2,3 раза.

Отримані результати вказують на глибокі порушення в активності антиоксидантної системи старечих тварин під дією нітриту натрію, яка поглиблюється до кінця експерименту. Виявлені порушення мають місце практично у всіх органах тварин. Вищевказане дозволяє в перспективі провести дослідження впливу екзогенних антиоксидантів на показники та активність захисних систем організму за умов нітритної інтоксикації та диференційовано підійти до підбору коригуючих чинників, враховуючи вік експериментальних тварин.

**OXIDATIVE-NITROSATIVE STRESS AND CELL DEATH
IN LIVER ASSOCIATED WITH PREDNISOLONE ACTION IN RATS:
EFFECTS OF VITAMIN D₃ TREATMENT**

LISAKOVSKA O. O., KHOMENKO A. V., LOTOTSKA O. Ju., SHYMANSKYYI O.

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

Hepatotoxicity has recently been recognized as one of the complications of chronic glucocorticoids (GC) administration. Biochemical aspects of the development of GC-induced abnormalities can largely be linked to alterations of oxidative metabolism in liver causing hepatocytes dysfunction and worsening their survival. Growing evidence also suggests the protective role of vitamin D₃ against reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS)-induced cell injury. The study was carried out to establish whether the deleterious effects of synthetic GC prednisolone on liver tissue are related to changes in the balance between free radicals generating systems and antioxidant defense as well as a possible contribution of putative ROS/RNS overproduction to modulation of cellular survival and death. Vitamin D₃ efficacy in correction glucocorticoid-induced alterations was also estimated.

Female Wistar rats received prednisolone (5 mg per kg of b.w.) with or without 100 IU of D₃ (for 30 days). ROS and RNS production in isolated hepatocytes and cell viability were determined by flow cytometry with 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, 4,5-diaminofluorescein diacetate and propidium iodide (PI) respectively. The levels of poly(ADP-ribose)polymerase 1 (PARP-1) and nitrated proteins were measured by Western-blot analysis. Expression of Bax and Bcl-2 in hepatocytes was assessed by immunocytochemistry. 25OHD₃ content in serum was measured by ELISA.

It was shown that prednisolone induces oxidative-nitrosative stress since enhanced ROS and RNS generation as well as accumulation of carbonylated and nitrated proteins in liver tissue was found vs. control. These changes were mediated by decreased activities of the key enzymes of antioxidant system (SOD, catalase, glutathione peroxidase), whereas the activities of pro-oxidant enzymes NAD(P)H-quinone oxidoreductase and semicarbazide-sensitive amine oxidase were shown to be increased. Increased generation of ROS/RNS related to prednisolone action caused disruption of the integrity of hepatocytes triggering destructive changes in these cells and thus reducing the number of functionally active hepatocytes. GC-induced cellular damage was further supported by a significant increase in the number of hepatocytes capable to accumulate PI that is associated with necrotic cell death. Moreover, prednisolone administration also resulted in more than 1.63-fold increase in the level of 89 kDa cleaved fragment of PARP-1 suggesting that apoptosis may take place concurrently. In contrary, apoptotic index Bax/Bcl-2 was found to be markedly reduced that indicates protective activation of anti-apoptotic signaling in liver cells. Prednisolone-associated changes were accompanied by 70% decrease in serum 25OHD₃ level, indicative of vitamin D₃ deficiency. Vitamin D₃ administration interfered with the effects of glucocorticoid therapy by normalizing the levels of ROS/RNS formation, oxidative modification of biomolecules and the activity of antioxidant enzymes that resulted in better hepatocytes survival.

In conclusion, the glucocorticoid-induced impairment of hepatic function was associated with D₃ hypovitaminosis and development of oxidative-nitrosative stress capable to modulate cell death and survival. Restoration of vitamin D₃ bioavailability has shown promise in reducing the deleterious effects of GC in the liver.

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ ПРОТЕИНАЗА-ИНГИБИТОР ПРОТЕИНАЗ НА СТРЕСС У ИНТАКТНЫХ И АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС

¹ЛОМАКО В. В., ²САМОХИНА Л. М.

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;
²ГУ «Национальный институт терапии им. Л. Т. Малой НАМН Украины», Харьков;
e-mail: victorial2003@list.ru

Взаимосвязь между алкоголем и стрессом неоднозначна: в одних исследованиях алкоголь снижает стресс, в других не оказывает эффекта или усиливает его, что ставит под сомнение справедливость гипотезы о том, что алкоголь уменьшает уровень стресс-реакции. Протеолиз является особой формой биологического контроля, запускает большинство биохимических процессов и определяет быстрый ответ организма на воздействие. Цель работы – изучить влияние стресса на активность протеиназ и их ингибиторов в образцах тканей головного мозга и внутренних органов у интактных и алкоголизованных крыс.

Работа выполнена на крысах 17–18 мес. возраста с соблюдением всех биоэтических норм. Алкоголизм начинали моделировать у 7–8 мес. крыс «двухбутылочным» методом (длительность спаивания – 10 мес). Стрессорное воздействие осуществляли в изолированной камере (стресс избегания). В сыворотке крови и безъядерных фракциях гомогенатов тканей коры мозга, гипоталамуса, сердца, легких, печени и почек определяли общую активность протеиназ (ОАП), активность нетрипсиноподобных протеиназ (НТПП) (химаза, частично тонин, без катепсина G), а также ингибиторов протеиназ – α -1-ингибитора протеиназ (α -1-ИП) и α -2-макроглобулина (α -2-МГ) с помощью высокочувствительного энзиматического метода. Статистическую обработку результатов проводили методом Стьюдента-Фишера с использованием программного обеспечения Excel.

После стрессорного воздействия у интактных крыс ОАП не изменялась, у алкоголизованных – достоверно повышалась только в сердце и почках. Активность НТПП возрастала в большинстве образцов у интактных животных, особенно в гипоталамусе и легких, в печени не изменялась, в почках снижалась; после стресса на фоне действия этанола активность НТПП возрастала во всех тканях еще более значительно. У интактных крыс стресс не оказывал влияния на активность ингибиторов, кроме α -2-МГ в почках (повышалась). На фоне алкоголизма у крыс стресс вызывал незначительное снижение α -1-ИП в гипоталамусе, сердце и почках и существенное снижение активности α -2-МГ во всех тканях по сравнению с контролем. Однако следует отметить, что в группе алкоголизованных крыс без стресса активность α -2-МГ была в несколько раз ниже, чем в группе алкоголь+стресс. α -2-МГ является важным компонентом иммунной системы организма и усиление его активности может свидетельствовать о защитном эффекте алкоголя при стрессорном воздействии, по крайней мере, на некоторые звенья иммунитета. Отмеченное же повышение активности НТПП в группе алкоголь+стресс скомпенсировано более высоким уровнем ингибиторов протеиназ по сравнению с алкоголизованными крысами, не подвергавшимися стрессу.

Таким образом, выявленные нами особенности протекания реакций ограниченного протеолиза могут указывать на определенный стресспротективный эффект алкоголя, что согласуется с данными других авторов о позитивной взаимосвязи между стрессом и потреблением алкоголя. Кроме того, следует учитывать, что в связи с длительностью моделирования патологии (в течение 10 мес.) на процесс алкоголизации накладываются процессы старения организма. Известно, что при старении изменяются ответные реакции организма на алкоголь, а алкоголизм, в свою очередь, ускоряет процессы старения.

ВПЛИВ 7-ДОБОВОГО ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ НА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ ТА ВМІСТ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА АЛОКСАНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ЛУГІНІЧ Н. М., ГЕРУШ І. В.

*Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна;
e-mail: nlevytska@ukr.net*

Одним із чинників, що відіграють значну роль у розвитку цукрового діабету та його ускладнень, є порушення метаболізму сірковмісних амінокислот. Метаболіти, які утворюються під час їх обміну можуть включатися до систем антиоксидантного захисту організму. До біологічно важливих метаболітів зазначених амінокислот належить також гідроген сульфід. Відомо, що печінка є важливим органом, що забезпечує розщеплення сірковмісних амінокислот і утворення гідроген сульфиду. Метою нашого дослідження було визначити вплив мелатоніну, як одного з найефективніших антиоксидантів, котрий не тільки зв'язує токсичні радикали, але і підвищує активність антиоксидантних ензимів, на рівень глюкози в крові, активність каталази, вміст малонового діальдегіду і гідроген сульфиду в печінці щурів.

Експерименти проводилися на 50 білих статевозрілих щурах-самцях з масою тіла – 0,16–0,18 кг. Цукровий діабет індукували введенням 5% розчину моногідрату алоксану в дозі 150 мг/кг, в/о. Тварини були розділені на підгрупи: 1) контрольні тварини; 2) тварини з явним цукровим діабетом (базальна глікемія 12,8–17,2 ммоль/л); 3) тварини з явним діабетом, яким інтрагастрально вводили мелатонін у дозі 10 мг/кг о 8⁰⁰ щодня упродовж 7 днів.

Алоксановий діабет спричинював зміни досліджуваних показників. У печінці щурів із цукровим діабетом активність каталази та рівень малонового діальдегіду збільшувалась на 17 та 39% відповідно, а вміст гідроген сульфиду зменшувався на 22% у порівнянні з показниками контрольних тварин. Введення мелатоніну сприяло нормалізації рівня базальної глікемії в діабетичних тварин у порівнянні із контрольною групою щурів. У печінці щурів із алоксановим діабетом, які отримували мелатонін, активність каталази та рівень малонового діальдегіду знижувались на 16 і 32% відповідно, а концентрація гідроген сульфиду мала тенденцію до зростання у порівнянні з показниками тварин з цукровим діабетом.

В умовах явного цукрового діабету введення екзогенного мелатоніну сприяло нормалізації вмісту гідроген сульфиду та активності ензимів антиоксидантного захисту в печінці щурів за рахунок їх активації. Від обміну сірковмісних амінокислот, у першу чергу, залежить глутатіонова система, тому в майбутньому є доцільним подальше дослідження впливу мелатоніну на стан глутатіонової системи та вмісту гідроген сульфиду.

МОНОКЛОНАЛЬНЕ АНТИТІЛО ДО ПРОТЕЇНУ С З МІНІМАЛЬНОЮ ГОМОЛОГІЄЮ ДО ІНШИХ ФАКТОРІВ ЗСІДАННЯ КРОВІ

*ЛУГОВСЬКОЇ Е. В., КОЛЕСНИКОВА І. М., КОСТЮЧЕНКО О. П.,
ПАЛИВОДА К. О., ПИДЮРА М. О., КОМІСАРЕНКО С. В.*

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

Основною функцією системи протеїну С (РС) в організмі є антикоагуляційна функція, яка запобігає утворенню фібринового каркаса тромбу. Дефіцит РС посилює ризик венозних та артеріальних тромбозів. Також РС відіграє визначну роль у захисті організму від бактеріальних інфекцій та перешкоджає розвитку сепсису. Тому визначення вмісту РС в плазмі крові має велике діагностичне значення. Найбільш чутливі і точні методи визначення РС базуються на специфічних моноклональ-

них антитілах (монАТ). У цій роботі описано отримання та проведення характеристики монАТ до РС людини.

Попередньо було здійснено пошук поліпептидних ділянок РС – претендентів на роль унікального епітопу до одержуваних антитіл за такими критеріями:

- 1) структурна ділянка повинна бути достатньо експонованою для того, щоб стати антигенною детермінантою, тобто бути частиною петлі або повороту амінокислотної послідовності;
- 2) оптимальний розмір ділянки – 12–15 амінокислотних залишків;
- 3) вона повинна мати мінімальну гомологію з факторами ІХ, Х, протромбіном і протеїном S;
- 4) фрагмент має включати ароматичні амінокислоти;
- 5) ділянка повинна мати біля 30% імуногенних амінокислот.

Однією з таких ділянок виявилась амінокислотна послідовність 144-155 в С-кінці легкого поліпептидного ланцюга РС. Було синтезовано відповідний пептид, кон'юговано його з гемоціаніном равлика та імунізовано мишей отриманим кон'югатом. Для одержання гібридом спленоцити миші гібридизували з клітинами мієломи X63-Ag8.653. Виділяли монАТ із культурального поживного середовища методом афінної хроматографії на протеїн G-сефарозі. Отримані монАТ IV-6A реагували з адсорбованими на планшеті пептидом (144-155), кон'югованим з альбуміном сироватки бика (BSA), з РС, активованим РС із плазми крові людини («SIGMA») та з рекомбінантним РС (r-PC), який вони розпізнають як в адсорбованому стані, так і в розчині. r-PC було отримано О. С. Олійник у відділі молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України.

Не реагували антитіла з BSA та фібрин(оген)ом. Отримані монАТ належать до класу IgG1. Константа дисоціації для них з r-PC складає $8,16 \cdot 10^{-9}$ М. МонАТ IV-6A до РС можуть бути використані для визначення РС у плазмі крові людини за допомогою конкурентного твердофазного або бісайтового імуноензиматичного аналізу в парі з іншими специфічними антитілами. Також ці монАТ можуть бути застосовані в афінній хроматографії для очистки РС із плазми крові людини.

КОРИГУЮЧИЙ ЕФЕКТ ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО (*Galega officinalis* L.) ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ЛУПАК М., КАНЮКА О., ГАЧКОВА Г., ЧАЙКА Я., СКИБІЦЬКА М.

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: marjanalupak@gmail.com*

Хронічна гіперглікемія є основним патогенетичним чинником при цукровому діабеті, що обумовлює утворення активних форм кисню (АФО), активацію індукційної NO-синтази, утворення пероксинітриду та розвиток оксидативно-нітративного стресу. Ці реакційноактивні молекули діють на β -клітини острівців Лангерганса підшлункової залози і можуть зумовлювати їхню апоптичну загибель. Високий рівень глюкози крові спричиняє виникнення запальних процесів, на що в першу чергу реагують лейкоцити. Оксидативно-нітративний стрес та запалення відіграють ключову роль у розвитку біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією.

З огляду на це, актуальним є пошук нових антидіабетичних препаратів, які б не тільки регулювали обмін вуглеводів, але і позитивно впливали на антиоксидантний статус організму. До лікарських рослин, які виявляють виражену цукрознижувальну дію та використовуються у клінічній практиці, належить козлятник лікарський. Метою роботи було дослідити ефекти дії безалкалоїдної фракції козлятника лікарського (БФ ЕКЛ) у щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) за результатами дослідження вмісту інсуліну, С-пептиду, продукції АФО та процесу апоптозу.

ЕЦД індукували введенням стрептозоточину (5,5 мг на 100 г маси тіла, в/о). Через два тижні після індукції ЕЦД тваринам *per os* вводили БФ ЕКЛ у вигляді водної суспензії (0,6 г на 1 кг маси тіла) в об'ємі 1 мл впродовж 14 діб. Вміст С-пептиду та інсуліну в плазмі крові визначали імуноензимним

методом. Оцінку продукування АФО у лейкоцитах здійснювали за допомогою флуоресцентного зонда 2',7'-дихлородигідрофлуоресцеїн діацетату. Детекцію ранніх проявів апоптозу у лейкоцитах проводили за ступенем експонування фосфатидилсерину у зовнішньому ліпідному шарі плазматичної мембрани з використанням міченого флуоресцеїнізотіоціанатом анексіну та пропідій йодиду. Розвиток цукрового діабету супроводжувався зростанням базального рівня продукування АФО, відзначено також збільшення числа анексінопозитивних лейкоцитів, що вказує на посилення екстерналізації фосфатидилсерину на їх поверхні. Водночас, було показано зниження рівня інсуліну та С-пептиду у плазмі крові щурів порівняно з контролем.

На фоні введення БФ ЕГЛ тваринам з цукровим діабетом встановлено підвищення рівня С-пептиду та інсуліну, що може бути зумовлено здатністю досліджуваного екстракту сприяти регенерації бета-клітин острівців Лангерганса. Зниження вмісту АФК, а також зменшення кількості лейкоцитів з ознаками апоптозу свідчить про його пригнічуючий вплив на генетично запрограмовану загибель цих клітин. Це можна пояснити наявністю у складі БФ ЕГЛ речовин, які виявляють гіпоглікемічну та антиоксидантну дію (фітол, етиловий естер пальмітинової кислоти, фітостероли, α -амірин, міристинова кислота, неофітадін, метиловий естер α -ліноленої кислоти, сквален, вітамін Е та флавоноїди), оскільки багаточисленними дослідженнями доведено захисний вплив антиоксидантів у процесі апоптозу.

EFFECT OF RAT PROGENITOR NEUROCELLS SUPERNATANT (RPNS) ON GLIOMA 101.8A CELLS *IN VITRO*

LIUBICH L. D., SEMENOVA V. M., STAYNO L. P.

*SI «Acad.A.P.Romodanov Institute of Neurosurgery NAMS of Ukraine», Kyiv;
e-mail: lyubichld@gmail.com*

Novel therapeutic approaches to fight against gliomas - primary brain tumors with infiltrative growth and resistance to treatment, - use neural stem and progenitor cells (NSC and NPC) for tumor targeted therapy due to their ability to migrate to the site of pathology, to integrate into the local environment and stably express genes [Ahmed A. U. et al., 2012; Bovenberg M. S. et al., 2013].

Objective: To evaluate the influence of the RPNS on experimental strain of glioma cells 101.8A, which is close to the most malignant human gliomas – glioblastomas according to its histobiological characteristics, in the short-term and long-term primary cultures.

Experiments volume: tumor fragments obtained from biopsies of rat brain glioma 101.8 ($n = 12$) and intact rat brain cells ($n = 6$) served as material for cultivation. RPNS was received from suspension made from whole rat brain tissue on 8-11th (E8-11) and 12-16th (E12-16) days of gestation.

Results: with the RPNS (E8-11) concentration growing from 0.01 to 0.10 mg/ml cytotoxic index (CI) in glioma 101.8A cell suspensions increased and reached $(41.84 \pm 4.08)\%$ and $(48.38 \pm 2.86)\%$, respectively, at 24 h and 48 h of incubation. With the RPNS (E12-16) concentration elevating from 0,01 to 0,10 mg/ml CI in glioma 101.8A cell suspensions was significantly ($P < 0.006$) increased to $(71.85 \pm 0.21)\%$ and $(91,99 \pm 2.37)\%$, respectively, at 24 h and 48 h of incubation. In intact rat brain cells suspensions CI reached the maximum rate $(22.9 \pm 4.97)\%$ under the influence of 0,10 mg/ml RPNS (E12-16) after 48 h incubation, which was significantly lower than those in glioma 101.8A cell suspensions ($P < 0.002$). Under conditions of RPNS (E8-11) influence in glioma 101.8A primary cultures the signs of dose-dependent cytotoxic effects were observed: retraction and thinning of growth areas, degeneration, morphologic alterations of tumor cells; mitotic index (MI) decreased of (4.0 ± 0.5) to $(1.3 \pm 0.1)\%$ and $(1.1 \pm 0.1)\%$ respectively after 24 h and 48 h of incubation. These features were strengthened under the RPNS (E12-16) influence, MI was reduced to $(0.85-0.90)\%$. According to electrophoresis in 1,5% PAAG, RPNS (E12-16) consisted of two major predominant protein fractions: 67 kDa - 55%; 46 kDa - 44%. According to ELISA, RPNS (E12-16) contained INF- α (7.4 pg/ml), INF- γ (13.3 pg/ml), TGF- β 1 (12.0 pg/ml).

Fetal RPNS showed cytotoxic and antiproliferative effects on glioma 101.8A cells *in vitro*, which intensified with increasing of rat brain gestational age, lengthening the duration of incubation and was dose-dependent. A prerequisite for such effects are likely the NPC ability to produce cytokines with antitumor activity (INF- α , INF- γ , TGF- β 1).

STUDY OF THE RAT PROGENITOR NEUROCELLS SUPERNATANT INFLUENCE ON IMMUNE SPLEEN CELLS CYTOTOXIC FUNCTION IN RATS

LIUBICH L. D.

SI «Acad.A.P.Romodanov Institute of Neurosurgery NAMS of Ukraine», Kyiv
e-mail: lyubichld@gmail.com

The actual direction of cell therapy of brain damage and malignant brain tumors is the use of neurogenic stem and progenitor cells (NSC/NPC), but the mechanisms of their anticancer and immunomodulatory effects remain controversial. It is known that the NSC / NPC are able to express and produce a variety of immunologically active molecules [Chen HC et al., 2010; Liu J. et al., 2013], which may determine their effects on cells of the immune system. Objective: To evaluate the impact of rat NPC supernatant (RPNS) on the cytotoxic activity of splenocytes in rats under intraperitoneal administration.

Cytotoxic activity of rat splenocytes (effector cells) was evaluated in MTT- colorimetric test by determining the state of mitochondrial dehydrogenase enzymes in target cells (allogeneic glioma 101.8A cells). RPNS was received from suspension made from whole rat brain tissue on 12-16th (E12-16) days of gestation. We investigated the following groups of animals: 1) intact rats ($n = 15$); 2) intact rats who 3x intraperitoneally injected with RPNS (1.2 mg) ($n = 15$); 3) rats with glioma 101.8 ($n = 35$); 4) rats with glioma 101.8 who 3x intraperitoneally injected with RPNS (1.2 mg) on the 5th, 7th and 9th days after tumor transplantation ($n = 26$).

In intact rats as well as in rats with glioma 101.8A intraperitoneal RPNS administration increased cytotoxic activity of splenocytes in MTT-test with allogenic cells of glioma 101.8A (effector-target ratio of 5:1) on 56.3% and 32.9% respectively ($P < 0.05$). Intraperitoneal RPNS administration prolonged the average life expectancy of rats with glioma from (15.3 ± 2.6) days to the (19.9 ± 3.6) days ($P < 0.0005$), accompanied with deferred start of death of animals on (4.3 ± 0.8) days and a longer survival of 15.4% of the animals for 11 days, and 3.8% of rats - for 28 days. According to ELISA, RPNS (E12-16) contained INF- α (7.4 pg/ml), INF- γ (13.3 pg/ml), TGF- β 1 (12.0 pg/ml). Obviously, the increased cytotoxic activity of immune cells under the RPNS influence is due to the action of its components INF- α and INF- γ , which is known to stimulate the function of cytotoxic lymphocytes, natural killer cells (INF- γ), macrophages and neutrophils (INF- α) and increase the expression of antigens MHC class I (INF- α , INF- γ) and class II (INF- γ) in glioma cells, increasing their susceptibility to lysis by cytotoxic lymphocytes and natural killer cells.

RPNS (E12-16) produce soluble factors that under conditions of intraperitoneal administration can increase the effectiveness of cytotoxic effect of immune cells on the allogeneic tumor cells in norm and in modeled experimentally tumor process.

ІОННИЙ ГОМЕОСТАЗ СПЕРМАТОЗОЇДІВ ЧОЛОВІКІВ ПРИ ОЛІГОЗООСПЕРМІЇ

*МАКАР Н. Г., ЛИЧКОВСЬКИЙ Е. І., ФАФУЛА Р. В.,
ВОРОБЕЦЬ Д. З., ВОРОБЕЦЬ З. Д.*

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: nadiya.makar@yahoo.com*

Найпоширеніші захворювання, які зумовлюють чоловічу субфертильність або неплідність, пов'язані із запальними процесами чоловічих статевих органів. Важливим показником функціонального стану сперматозоїдів є іонний гомеостаз. Na^+ , K^+ -АТРаза та Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРаза належать до основних систем, що здійснюють первинний активний транспорт іонів і формують на мембрані електрохімічні градієнти, енергія яких використовується для забезпечення життєдіяльності клітини і підтримання гомеостазу Ca^{2+} і Na^+ . Ca^{2+} , як відомо, є одним з основних внутрішньоклітинних месенджерів, який регулює десятки клітинних функцій. Зокрема, ці іони ініціюють рухливість, капациацію і акросомну реакцію сперматозоїдів. Виходячи з цього, метою даної роботи було з'ясувати зміни концентрації кальцію в сперматозоїдах і плазмі при різних ступенях олігозооспермії.

У проаналізованих еякулятах чоловіків із олігозооспермією концентрація Са у сперматозоїдах і плазмі та їх сумарний вміст у спермі були найвищими при олігозооспермії II–III ступеня, найнижчими при нормозооспермії, крім того, у плазмі оцінених еякулятів концентрація іонів була значно вищою, ніж у сперматозоїдах. Середня концентрація Са у сперматозоїдах становила 1,05–1,73, у плазмі – 3,58–8,75 мМ. Незважаючи на високі значення коефіцієнта варіації (C_v), який для Са коливається у межах 24–45%, достовірність змін вмісту Са була дуже високою. Встановлено, що зі зростанням ступеня олігозооспермії збільшується концентрація кальцію як в цілому в спермі, так і в сперматозоїдах та спермальній плазмі, тобто ці процеси тісно взаємопов'язані. Аналіз показників концентрації іонів свідчить, що в еякулятах кожної дослідної групи з різною кількістю сперматозоїдів міститься майже однакова концентрація Са. Тобто при високих значеннях коефіцієнта варіації кількості статевих клітин в еякулятах ($C_v = 76\%$) середній вміст іонів у сперматозоїдах і плазмі не змінюється. Крива змін вмісту у кожній дослідній групі еякулятів є майже прямою. Оскільки на даний час ще остаточно не визначено вплив іонів на функціональний стан сперматозоїдів в еякулятах різної якості, було встановлено зв'язки між вмістом Са у плазмі і сперматозоїдах та їх рухливістю. Аналіз результатів досліджень свідчить про те, що криві змін вмісту Са у плазмі та сперматозоїдах при нормозооспермії спрямовані від вищої концентрації за низької рухливості до нижчої у разі високої. При патоспермії залежність між рухливістю сперматозоїдів і концентрацією Са в них та плазмі виражена менш чітко.

Таким чином, як для норми, так і для патоспермії при рухливості сперматозоїдів $>30\%$ існує зворотня кореляція між рухливістю і концентрацією Са у сперматозоїдах.

DISTRIBUTION OF S-100B AND GLIAL FIBRILLARY ACIDIC PROTEIN IN THE RAT BRAIN AND PANCREAS UNDER THE CONDITIONS OF PANCREATIC ENCEPHALOPATHY

¹MAKARCHUK V. A., ²USHAKOVA G. A.

¹SI «Institute of Gastroenterology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Dnepropetrovsk;

²Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;
e-mail: viktoriam7@gmail.com

The study of the molecular and biochemical mechanisms which underlaid the development of pancreatic encephalopathy is currently very important. Endotoxins are primarily aimed to astrocyte cells, leading to their morphological and biochemical changes. The biochemical state of astroglial cells is evaluated by the level of Ca²⁺-binding protein S-100b and the glial fibrillary acidic protein (GFAP). However, the nature of quantitative distribution of S-100b and GFAP in the brain and pancreas of rats during the development of pancreatic encephalopathy remains unclear.

The present study was conducted using 36 white nonlinear male rats (6 months old, 190-220 g). To develop the state of chronic pancreatitis animals were subjected to laparotomy under general anesthesia and prolonged occlusion of the pancreatic duct. Protein fractions were extracted from the pancreas and various parts of the rat brain and the level of soluble (S-100b and sGFAP) and filament (fGFAP) proteins were due to the competitive ELISA. Total protein in the obtained fractions was measured by Bradford assay. Behavioral activity of rats was tested in "open field" due to Buresh.

The significant increase of S-100b level in the fraction extracted from hippocampus and thalamus was observed – to 78.0% ($P < 0.001$) and 60.3% ($P < 0.01$) respectively under state of chronic pancreatitis compare to the control. Development of chronic pancreatitis was accompanied by increasing of S-100b in pancreas to 119.7% ($P < 0.01$) too. Under chronic pancreatitis the content of sGFAP was increased to 31.3% ($P < 0.05$) in the cerebellum and tended to grow up to 12.3% in the thalamus. The content of fGFAP was decreased to 18.0% ($P < 0.05$) in cerebellum, to 43.5% ($P < 0.001$) in hippocampus, and to 41.7% ($P < 0.01$) in thalamus. In pancreas the contents of sGFAP was decreased to 41.9% ($P < 0.05$) and fGFAP – to 18.6% ($P < 0.05$). According behaviour study the frequency of intersections of lines in the internal and external squares significantly was reduced after first 5 days of the experimental development of chronic pancreatitis – to 51.1% ($P < 0.01$) and 91.8% ($P < 0.01$); on 14 day – to 80.7% ($P < 0.001$) and 91.4% ($P < 0.01$); and on 29 day – by 85.4% ($P < 0.001$) and 100% respectively, compared to the control group. The frequency of "vertical stand" and "hide" were significantly reduced on day 5 – to 37.9% ($P < 0.05$) and 60.3% ($P < 0.01$) respectively; on 14 day – to 87.8% ($P < 0.001$) and 84.7% ($P < 0.001$); and on 29 day – to 95.4% ($P < 0.001$) and 84.9% ($P < 0.001$). The frequency of "grooming" were increased to 76.3% ($P < 0.05$) and 15.5%, respectively, on the 5 and 14 days of the experiment, and was decreased to 15.8% on the day 29. At the same time the frequency of "urination" and "liming" were increased after first 5 days, to 74.6% and 166.0%; on day 14 – to 34.0% and 123.9% ($P < 0.05$); and on day 29 – to 51.5% and 66.0%, respectively.

The average inverse correlation between the increased S-100b level in hippocampus and decreased fGFAP ($r = -0.657$, $P < 0.05$), and between the increased S-100b in thalamus and decreased fGFAP ($r = -0.714$, $P < 0.05$) were observed. The direct linkage between the decreased fGFAP in cerebellum and decreased frequency of crossing external lines of squares ($r = 0.941$, $P < 0.01$) and between increased sGFAP in cerebellum and increased acts of «grooming» ($r = 0.812$, $P < 0.5$) were observed also along with multidirectional link between decreased concentration of fGFAP in cerebellum and the frequency of "defecation" ($r = -0.926$, $P < 0.01$).

The elevated level of S-100b in the brain and pancreas of rat under the conditions of endogenous intoxication during chronic pancreatitis development can induce the pancreatic encephalopathy development. Significant reduction of filament GFAP in the central and peripheral nervous system suggests the cytoskeleton reorganization of astroglial cells, which indirectly affects synaptic plasticity and function of nervous system. Obtained result allow to suggest the dependency between the level of astrocyte-specific proteins in the rat brain and physiological responses under development of pancreatic encephalopathy.

ДИНАМІКА ЛАБОРАТОРНИХ ТА КЛІНІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРИ ЛІКУВАННІ ОЖИРІННЯ

¹МАНЖАЛІЙ Е. Г., ²БАКА О. М.

¹Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;

²Лікарня для вчених НАН України, Київ

Встановлено, що жирова тканина (ЖТ) є потужним ендокринним органом, а ожиріння розглядається як запалення ЖТ, при якому різко збільшується продукція та секреція прозапальних адіпоцитокінів, відбувається дисрегуляція імунної системи. Створюється порочне коло: порушення мікрофлори кишечника, накопичення ендотоксинів, дисбаланс цитокінової регуляції, надмірне накопичення вільних радикалів.

Мета – оцінити динаміку лабораторних та клінічних показників при лікуванні ожиріння з використанням препарату адеметионін та 1,5 млрд. живих бактерій *Lactobacillus rhamnosus* LGG з фруктоолігосахаридами. Обстежено 37 хворих на ожиріння. Серед обстежених було 22 жінки та 15 чоловіків віком 28–53 роки (середній вік – $44,0 \pm 3,2$ року). Індекс маси тіла (ІМТ) з ожирінням 1 ступеня виявлений у 69% хворих, середній – $31,2 \pm 2,1$, 2 ступеня у 31% – середній у $36,4 \pm 3,1$. Вміст лептину в сироватці крові хворих до лікування склав $39,7 \pm 2,5$ нг/мл, адипонектину (АДН) $4,2 \pm 1,7$ нг/мл, інтерлейкіну 6 (ІЛ-6) – $15,2 \pm 2,9$ пг/мл. Наявність синдрому надмірного бактеріального росту відмічалась у 79%, а жирова інфільтрація печінки у 93%. Залежно від лікування хворих розподілили на дві групи: в основній групі (ОГ) додатково до раціонального харчування був призначений адеметионін 800 мг/добу та 1,5 млрд. живих бактерій *L. rhamnosus* LGG з фруктоолігосахаридами впродовж 3 місяців. Хворі контрольної групи (КГ) отримували лише збалансоване харчування, поведінкову терапію та адекватні фізичні навантаження впродовж 30 хвилин/добу.

У хворих на ожиріння 1 ступеня встановлено в ОГ ІМТ після лікування $27,1 \pm 2,7$, 2 ступеня – $31,8 \pm 2,9$. Середній показник зниження маси тіла склав $8,5 \pm 1,16$ кг в порівнянні з КГ $4,5 \pm 2,2$ кг. У пацієнтів ОГ відзначено статистично достовірне зниження рівнів лептину $27,5 \pm 2,1$ нг/мл, ІЛ-6 до $2,7 \pm 1,2$ пг/мл, визначалося зниження жорсткості печінки та показника АлАТ ($P < 0,001$), АДН підвищився у 45,2% ($P < 0,01$) пацієнтів, покращилися показники ліпідограми. Вірогідних змін цитокінів та мікрофлори кишечника в КГ ми не відмічали.

Включення препарату адеметионін та 1,5 млрд. живих бактерій *L. rhamnosus* LGG з фруктоолігосахаридами до терапії хворих на ожиріння сприяє досягненню зниження маси тіла, нормалізації мікрофлори кишечника та підвищує ефективність лікування зазначених захворювань.

Визначення вмісту лептину, який є центральним регулятором енергетичного балансу та маси тіла, а також маркером ожиріння в організмі допоможе оцінити ефективність лікування. Підвищення рівня лептину залежить від ступеня ожиріння.

Роль АДН в патогенезі ожиріння підтверджується тим, що при зниженні ваги, покращенні клінічного стану хворих після лікування відмічається підвищення рівня АДН.

ЗАГАЛЬНИЙ ПРОТЕЇН СИРОВАТКИ В ПРОГНОЗУВАННІ ЗАПАЛЬНО-ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ НА ГЛІОМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

МАРКОВА О. В., РОМОДАНОВ С. А., ГЛАВАЦКИЙ О. Я.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ;

e-mail: markova2001@mail.ru

Покращення якості життя хворих на злоякісні гліоми головного мозку – важлива наукова проблема. Одним із шляхів вирішення цієї проблеми є попередження розвитку запально-інфекційних

ускладнень у післяопераційному періоді. Мета роботи – дослідити рівень загального протеїну у сироватці крові і розвиток запально-інфекційних ускладнень після хірургічного лікування хворих на гліоми головного мозку.

Ретроспективно проаналізовано результати лікування 21-го хворого на гліоми головного мозку супратенторіальної (переважно лобової) локалізації (13 спостережень – хворі на гліому IV ступеня злоякісності; 8 – хворі на гліому II ступеня злоякісності). Середній вік хворих на гліому IV – 49,5 років (min – 40,0; max – 63,0), хворих на гліому II – 39,8 років (min – 27,0; max – 55,0). Співвідношення чоловіки : жінки складало 10 : 3. Перед операцією визначали рівень загального протеїну сироватці і кількість лімфоцитів у крові згідно зі стандартними методами, активність лімфоцитів природних кілерів (хромовий метод, 4-х годинний тест, мішені-клітини лінії K-562). Про розвиток запально-інфекційних ускладнень свідчили записи в історіях хвороб (bronхопневмонія, трахеобронхіт з гнійним мокротинням, менінгоенцефаліт та ін.).

Рівень загального протеїну був $\leq 65,0$ г% виявлений у 38,1% спостережень (8 з 21, усі 8 спостережень – хворі на гліому IV). Разом з тим, у двох випадках запально-інфекційні ускладнення після оперативного втручання розвилися на тлі відсутності ознак недостатності протеїнсинтезуючої функції (рівень загального протеїну – 75,2 г%; хворі на гліому II). Середня кількість лімфоцитів периферійної крові у цих групах хворих різнилася мало (21,7 та 23,5% відповідно). Активність клітин природних кілерів залежала переважно від інтенсивності протинабрякової терапії і була малоінформативною.

Зниження рівня загального протеїну в сироватці крові ($\leq 65,0$ г%) має прогностичне значення для розвитку інфекційно-запальних ускладнень у хворих на гліоми IV, але ми вважаємо, що існують інші біохімічні та імунологічні фактори, які необхідно брати до уваги для попередження цих ускладнень.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЛІФЕРАЦІЇ У ВІДПОВІДЬ НА ЕПІДЕРМАЛЬНИЙ РОСТОВИЙ ФАКТОР КЛІТИН БІОПТАТІВ ХВОРИХ НА ГЛІОМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

МАРКОВА О. В.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ;
e-mail: markova2001@mail.ru

Відомо, що епідермальний ростовий фактор (ЕРФ) грає важливу роль у підтримці нормальних та малігнізованих клітин шляхом промоції клітинної проліферації та життєздатності. Дослідження *in vitro* ефекту ЕРФ на гліомні клітини може стати додатковим клініко-лабораторним критерієм у разі призначення комбінованого лікування хворим на злоякісні гліоми. Зрозуміло, що для клінічних потреб необхідно впроваджувати відносно прості, доступні, але інформативні тести. Мета роботи – розробити доступний для клініко-лабораторних досліджень метод оцінки проліферації клітин біоптатів у відповідь на ЕРФ у хворих на пухлини головного мозку.

Матеріалом роботи були фрагменти біоптатів пухлин головного мозку (12 зразків), які надавалися нейрохірургами під час оперативних втручань для поглибленого дослідження. 6 хворих оперувалися вперше, 6 хворих – з приводу рецидиву пухлини. Середній вік хворих – 39,7 років (min – 29,0; max – 60,0). В умовах короткострокового культивування визначали відповідь клітин гліом головного мозку на різні дози ЕРФ (Sigma, США). Із фрагментів біоптатів пухлин отримували суспензії клітин, звільняли їх від загиблих і гинучих клітин, підраховували кількість клітин з використанням 0,2% розчину барвника трипанового синього і визначали їх життєздатність. 2 млн. клітин ресуспендували в 1 мл середовища ДМЕМ, що містило сироватку фетусу великої рогатої худоби (10%) та гентаміцин (80 мкг в 1 мл). Клітини інкубували 72 год з дослідною сполукою (1000, 100 та 10 нг) та без неї, після чого осаджували центрифугуванням (400 g, 5–7 хвилин) і відмивали в 1мл фізіологічного розчину. Оцінку життєдіяльності клітин проводили з використанням 3-[4,5-диметилтіазол-2]-2,5-дифенілтетразолій броміду (МТТ-тест), розраховуючи індекс клітинної проліферації (ІКП).

Збільшення ІКП $\geq 2,0$ у наших дослідженнях спостерігалось у 4 з 12 хворих. Дослідження ІКП пухлин у залежності від дії різних доз ЕРФ показали його дозозалежну дію в інтервалі 10,0–100,0 нг. Збільшення концентрації фактора ≥ 1000 нг не приводило до досягнення величини ІКП $\geq 2,0$. У хворих, що оперувалися вперше, активація проліферації клітин пухлини мала місце у 3 з 6 хворих.

Отримані результати свідчать про інформативність, доступність, простоту у виконанні розробленої нами модифікації методу оцінки проліферації клітин біопатів у відповідь на ЕРФ у хворих на пухлини головного мозку. Метод може бути корисним при дослідженні біологічних особливостей пухлин головного мозку в умовах нейрохірургічних відділень обласних лікарень.

ОЦІНКА ПРОЦЕСІВ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ УСТАНОВЦІ ДЕНТАЛЬНИХ ІМПЛАНТАТІВ ІЗ БІОАКТИВНОЮ ПОВЕРХНЕЮ

МАШЕЙКО І. В., ЕЙСМУНД П. А., БРАЗЛУК О. З.

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія» МОЗ України;
e-mail: mash_7@mail.ru*

До сьогодні повністю не з'ясовані механізми безпосереднього впливу біологічно активного покриття поверхні дентальних імплантатів на кісткову тканину. Не зважаючи на відсутність протипоказань до операції, високий технологічний рівень та бездоганне виконання, досить часто спостерігається погана остеointegraція імплантатів із подальшим їх відторгненням на різних строках після установки. Для попередження можливих ускладнень, є необхідним проведення поглибленого дослідження активності процесів ремоделювання кісткової тканини на різних етапах хірургічного втручання. Для визначення впливу біоактивних покриттів на кісткову тканину, досить об'єктивною є оцінка динаміки маркерів остеогенезу. Такий підхід дозволяє впливати на ефективність застосування імплантатів із кальцій-фосфатним покриттям, оцінити їх біологічну сумісність із тканинами порожнини рота й організму в цілому. Мета роботи – оцінити активність процесів ремоделювання кісткової тканини за динамікою зміни рівня маркерів остеогенезу плазми крові за використання дентальних імплантатів із біоактивним кальцій-фосфатним покриттям та без нього.

Дослідна ($n = 16$) та контрольна ($n = 12$) групи включали пацієнтів з показаннями до імплантації (чоловічої та жіночої статі порівну, віком 46–58 років), яким було встановлено по чотири імплантати (верхня та нижня щелепи). Пацієнтам контрольної групи встановлювали дентальні імплантати V2Km (Vitaplant) з мікропористою структурою поверхні. У дослідній групі використовували Alpha Dent Implant Classic з поверхнею 3D Active (мікропориста, гідрофільна, збагачена біологічно активним гідроксиапатитом кальцію). Визначення концентрації маркерів остеогенезу проводили у зразках крові дослідної та контрольної груп на підготовчому етапі планування хірургічного втручання, через 1 та 3 місяці після установки дентальних імплантатів. Рівень остеокальцину визначали методом імуноензимного аналізу стандартними тест-наборами (Osteometer BioTech Osteocalcin, ELISA). Активність лужної фосфатази, концентрацію фосфатів та кальцію визначали ензимно-колориметричними методами.

Перед проведенням імплантації показники у пацієнтів контрольної групи: рівень остеокальцину – $23,74 \pm 0,64$ нг/мл; активність лужної фосфатази – $214,57 \pm 5,94$ Е/л; концентрація кальцію ($2,28 \pm 0,03$ ммоль/л) та фосфатів ($1,15 \pm 0,02$ ммоль/л). Показники у пацієнтів дослідної групи були такими: остеокальцин – $22,56 \pm 0,67$ нг/мл; лужна фосфатаза – $218,22 \pm 6,08$ Е/л; кальцій ($2,23 \pm 0,02$ ммоль/л) та фосфати ($1,16 \pm 0,02$ ммоль/л). Через 1 місяць після установки імплантатів у контрольній та дослідній групах встановлено схожу тенденцію до підвищення концентрації остеокальцину (контрольна група – у 1,43 раза, дослідна – у 2,34 раза), зниження активності лужної фосфатази (контрольна група – на 42,33%, дослідна група – на 28,85%), підвищення концентрації кальцію та фосфатів. Повторні дослідження через три місяці виявили наступне: у контрольній групі рівень

остеокальцину – $27,81 \pm 1,06$ нг/мл; активність лужної фосфатази – $165,17 \pm 3,83$ Е/л; концентрація кальцію ($1,95 \pm 0,03$ ммоль/л) та фосфатів ($0,92 \pm 0,02$ ммоль/л); у дослідній групі рівень остеокальцину – $32,35 \pm 1,78$ нг/мл; активність лужної фосфатази – $203,45 \pm 4,19$ Е/л; концентрація кальцію ($2,07 \pm 0,03$ ммоль/л) та фосфатів ($1,19 \pm 0,03$ ммоль/л).

Оцінка динаміки маркерів остеогенезу до та після хірургічного втручання показала доцільність застосування імплантатів з біоактивною поверхнею: через три місяці у дослідній групі спостерігається повна нормалізація метаболізму кісткової тканини. У контрольній ці показники нормалізуються у більш віддалений термін, зберігаючи ризик відторгнення після переходу у фазу навантаження імплантатів.

ТРИГЕРИ РОЗВИТКУ РЕАКТИВНОГО АРТРИТУ ТА NO-СИНТАЗНА СИСТЕМА ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ

МЕЛЬНИК О. В., КОРНІЙЧУК О. П.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: anna0408@mail.ru*

Реактивний артрит (РеА) – широко розповсюджене ревматичне захворювання у світі та в Україні, зокрема. Він розглядається як мультифакторна патологія, яка може бути пов'язана з хронічною урогенітальною, кишковою та носоглотковою інфекцією. Незважаючи на поширеність захворювання та велику кількість клінічних досліджень все ще залишається невирішеним ряд питань щодо тригерної ролі окремих мікроорганізмів і вірусів у розвитку РеА, їх впливу на імунну систему та порушення метаболічних і регуляторних систем клітини. Метою нашого дослідження було проаналізувати інфекційні чинники, що спричиняють розвиток РеА.

Ідентифікацію мікроорганізмів і вірусів проводили на момент поступлення хворих на лікування у стаціонарне відділення Львівської обласної клінічної лікарні з використанням методів ланцюгової полімеразної реакції та імуноензиматичного аналізу.

Нами проаналізовані етіологічні фактори, що спричиняли розвиток РеА у хворих, які стаціонарно чи амбулаторно лікувались. Серед них найбільший відсоток захворювання був спричинений хламідіями (36%). Хламідії + уреоплазма – 5%, трихомонада + хламідії – 3%, уреоплазма – 3%, мікоплазма – 3%, β -гемолітичний стрептокок – 19%. Оскільки лімфоцити периферичної крові є ключовими клітинами імунної системи, ймовірно, їх можна застосовувати як моделі для вивчення основних метаболічних змін при ревматичній патології. Протягом останнього десятиріччя значна увага приділяється вивченню метаболізму аргініну та ролі оксиду азоту (NO) в патогенезі ревматичних захворювань. Показано, що активність аргінази лімфоцитів хворих на РеА у 3,3 раза вища у порівнянні з такою величиною у практично здорових осіб. У результаті лікування ця активність знижується на 36%. Оскільки метаболізм L-аргініну залежить і від активності NO-синтаз, визначали зміни активності eNO-синтази та iNO-синтази при РеА. Показано достовірне зниження активності eNO-синтази в лімфоцитах у хворих на РеА, що становить різницю в 1,88 раза по відношенню до практично здорових осіб. У той же час активується iNO-синтаза в лімфоцитах пацієнтів, хворих на РеА. Внаслідок лікування зростала активність eNO-синтази та знижувалась активність iNO-синтази.

Проведені дослідження засвідчують, що імунопатологічні процеси, які відбуваються при розвитку РеА залежать від рівня оксиду NO в організмі. Вивчення інфекційних чинників і змін ензиматичної активності аргінази та NO-синтаз – ключових ензимів метаболізму NO дає інформативну оцінку про перебіг патологічних процесів в організмі, зокрема і при автоімунних захворюваннях.

ОСОБЕННОСТИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ВТОРИЧНОЙ АМЕНОРЕЕЙ*НАЧЕТОВА Т. А., КАШКАЛДА Д. А., КУЛИНИЧ Т. М.**ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков;
e-mail: da.kashkalda@mail.ru*

Актуальность изучения различных аспектов вторичной аменореи (ВА) у девочек-подростков связана с ее почти двукратным ростом за последние десятилетия. Однако большинство исследований посвящено изучению гормонального статуса при данном заболевании, а углубленное исследование углеводного обмена проводилось, как правило, лишь при наличии инсулинорезистентности у пациенток с СПКЯ. Целью настоящего исследования было изучение особенностей результатов глюкозотолерантного теста у девочек-подростков с вторичной аменореей.

Для реализации поставленной цели 42 девочкам 13–17 лет с ВА проводили стандартный глюкозотолерантный тест и по общепринятым методикам рассчитывали коэффициенты Бодуэна, Рафальского и Сокольникова. Всем больным определяли величину индекса массы тела (ИМТ). Больных с ВА в зависимости от характера менструального цикла (МЦ) до возникновения ВА распределяли на 3 группы: I – девочки, у которых менструации были не чаще, чем 1 раз в 6 месяцев ($n = 23$), II – девочки, у которых возникновению ВА предшествовали различные нарушения МЦ ($n = 10$), III – девочки, у которых МЦ был регулярным до появления ВА ($n = 9$).

Как показали результаты исследования, уровень глюкозы через 60 мин после ее приема закономерно достоверно повышался по сравнению с тощаковым во всех группах девочек с ВА, однако у 62% обследованных независимо от величины ИМТ и варианта ВА регистрировался «плоский» тип гликемической кривой. Через 120 минут концентрация глюкозы достоверно снижалась по сравнению со вторым измерением только у девочек из группы I ($5,07 \pm 0,17$ и $6,09 \pm 0,34$ ммоль/л соответственно; $P < 0,05$) и группы II ($4,72 \pm 0,32$ и $6,26 \pm 0,46$ ммоль/л соответственно; $P < 0,05$). При этом у пациенток из группы I при третьем измерении уровень глюкозы по сравнению с тощаковым также оказался повышенным ($5,07 \pm 0,17$ и $4,44 \pm 0,12$ ммоль/л соответственно; $P < 0,05$).

Мы предположили, что характер полученных результатов может зависеть от ИМТ. Установлено, что уровень глюкозы через 60 мин после ее приема достоверно повышался по сравнению с тощаковым независимо от величины ИМТ. Однако при третьем измерении содержание глюкозы было ниже, чем при втором только у девочек с нормальным ИМТ ($4,82 \pm 0,19$ и $6,03 \pm 0,31$ ммоль/л соответственно; $P < 0,05$). Через 120 мин после приема глюкозы ее уровень был выше тощакового у больных с нормальными значениями ИМТ ($4,82 \pm 0,19$ и $4,29 \pm 0,15$ ммоль/л соответственно; $P < 0,05$) и показателей ИМТ, превышающими возрастные нормативы ($5,24 \pm 0,26$ и $4,31 \pm 0,18$ ммоль/л соответственно; $P < 0,05$). Уровень глюкозы, превышающий 5,6 ммоль/л, измеряемый натощак, был только у одной больной, а превышающий 7,1 ммоль/л через 120 мин после нагрузки у наших пациенток не регистрировался. Повышение коэффициента Бодуэна более 1,7 не было обнаружено ни у одной девочки с ВА, что свидетельствовало об адекватной резорбции глюкозы из кишечника. Коэффициент Рафальского был повышен у 71% девочек с ВА (независимо от величины ИМТ и клинического варианта ВА), что говорило о недостаточности выброса инсулина в ответ на нагрузку глюкозой. Коэффициент Сокольникова был повышен только у одной девочки с ВА.

Таким образом, у большинства девочек развитие ВА происходит на фоне нарушения углеводного обмена, о чем свидетельствует изменение характера гликемической кривой и гипогликемического коэффициента Рафальского.

ЗМІНИ МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ОРГАНІВ І ТКАНИН ДОСЛІДНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ КАДМІЄВО – НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

НЕЧИТАЙЛО Л. Я., ЕРСТЕНЮК Г. М.

*Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
e-mail: nechytailo7@mail.ru*

Розвиток промисловості та сільськогосподарського виробництва супроводжується забрудненням навколишнього середовища різноманітними хімічними речовинами, зокрема, важкими металами та нітратами. Вони проникають в поверхневі води, накопичуються у рослинах, мігрують у ланцюгах живлення та впливають на організм людини і тварин. На сьогоднішній день досить частими є ситуації, коли в організм людини поступають одночасно нітрат-іони та катіони кадмію. Науково-практичний інтерес становлять дослідження спільної дії цих токсикантів на живі організми, зокрема на мікроелементний склад органів і тканин, що має важливе значення для розуміння їх впливу на регуляцію метаболічних процесів. У даній роботі представлені результати вивчення впливу кадмієво-нітратної інтоксикації на рівень есенціальних елементів, зокрема, міді та цинку в тканинах печінки та нирок.

Для вивчення поєданого впливу хлориду кадмію та нітрату натрію інтоксикацію моделювали на білих нелінійних щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні в умовах віварію. Піддослідних тварин було поділено на дві групи: I – контрольна (інтактні), які отримували звичайну питну воду, II – дослідна, тваринам якої вводили в/м хлорид кадмію в дозі 1/10 LD₅₀ і перорально нітрат натрію в дозі 1/10 LD₅₀ протягом 10 діб. Матеріал відбирали на 14-, 28-у добу після завершення введення токсикантів, під легким ефірним наркозом із дотриманням вимог біоетики. Концентрацію мікроелементів визначали в нирковій тканині та печінці методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії на спектрофотометрі С-115 ПК. Статистичну обробку одержаних даних проводили з використанням програми Statistike.

Результати проведених нами досліджень вказують на порушення рівня міді і цинку у тканинах печінки та нирок експериментальних тварин уражених хлоридом кадмію і нітратом натрію. Зокрема, вміст міді в нирковій тканині тварин, які зазнали комбінованої дії токсикантів зростав на 14-, і 28-у добу відповідно в 1,7–1,9 раза. У печінці відмічено накопичення міді протягом всього періоду спостереження, на 28-у добу вміст її перевищував показники контрольних тварин у 1,7 раза. Рівень цинку в нирковій тканині знижувався на 14-у добу, тоді як на 28-у добу спостережень – зростав на 20% порівняно до контрольної групи тварин. У печінці вміст цинку збільшувався на 14-у добу на 50%, а до кінця експерименту знижувався в порівнянні до контрольної групи.

Таким чином, одержані результати вказують на розвиток дисмікроелементозу в організмі тварин, на тлі кадмій-нітратної інтоксикації, що може бути основою для подальшого вивчення метаболічних процесів за таких впливів.

**СТАН АНТИОКСИДОВАЛЬНОЇ СИСТЕМИ М'ЯКИХ ТКАНИН
ПАРОДОНТУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ
ТА ЛІКУВАННЯ ПАРОДОНТАЛЬНИМИ ПЛІВКАМИ
НА ОСНОВІ ХІТОЗАНУ**

НІЖЕНКОВСЬКА І. В., ОСІНСЬКА Л. Ф., МУРЛАНОВА К. С.

*Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;
e-mail: kmurlanov@ukr.net*

Вільнорадикальне окислення ліпідів є одним з основних факторів, які ініціюють запально-дистрофічні процеси в тканинах пародонта. Значну актуальність в галузі пародонтології представляє пошук, розробка, впровадження та вивчення нових лікарських форм, які дозволяють контролювано вводити відповідну кількість діючої речовини крізь слизову оболонку ротової порожнини без порушення її цілісності. Одними з таких ефективних лікарських форм є пародонтальні плівки на основі хітозану (ХТЗ), які мають виражену ранозагоюючу, антиоксидантну, імуномодулюючу дію, сприяють відновленню мікрокапілярної сітки ушкоджених тканин і локально прискорюють відновні процеси.

Метою роботи було визначення стану антиоксидантної системи в м'яких тканинах пародонта за умов експериментального пародонтиту та його лікування пародонтальними плівками на основі ХТЗ.

Досліди проводили на 30 білих щурах лінії Вістар з масою 150–200 г. Дослідних тварин було поділено на 3 групи: перша – контрольна група (щури зі здоровим пародонтом), друга – тварини без лікування, третя – лікування пародонтальною плівкою на основі ХТЗ. Для моделювання пародонтиту була використана пероксидна модель. Загальну антиоксидовальну активність, активність церулоплазміну та супероксиддисмутази визначали в м'яких тканинах пародонта, які хірургічно виділяли після евтаназії щурів. Визначення загальної антиоксидовальної активності здійснювали по методиці Г. І. Клебанова і І. В. Бабенко, заснованій на здатності біологічного матеріалу гальмувати накопичення ТБК-активних продуктів у суспензії ліпопротеїдів жовтка. Активність супероксиддисмутази визначали за методикою В. Н. Чумакова та Л. Ф. Осінської. Аналіз активності церулоплазміну здійснювали модифікованим методом Ревіна.

Загальна антиоксидовальна активність у м'яких тканинах пародонта становила: перша група – $19,48 \pm 2,07$ нмоль МДА/мл; друга група – $11,04 \pm 3,17$ нмоль МДА/мл; третя група – $15,03 \pm 2,15$ нмоль МДА/мл. Активність церулоплазміну в м'яких тканинах пародонта контрольної групи дорівнювала $1,63 \pm 0,15$ мг%, за експериментального пародонтиту – $0,87 \pm 0,11$ мг%, а під час фармакологічної корекції пародонтальною плівкою на основі ХТЗ – $1,15 \pm 0,14$ мг%. Активність супероксиддисмутази в м'яких тканинах пародонта у тварин з пародонтитом становила $0,67 \pm 0,05$ мг%, що достовірно вище ніж у тварин контрольної групи ($0,38 \pm 0,05$ мг%). Внаслідок лікування тварин пародонтальними плівками на основі ХТЗ рівень активності супероксиддисмутази знизився до $0,43 \pm 0,05$ мг%.

Виявлено, що за умов експериментального пародонтиту активність загальної антиоксидовальної системи та церулоплазміну знижуються, в той час як активність супероксиддисмутази навпаки збільшується. Позитивна динаміка нормалізації даних індикаторів вільнорадикального окислення ліпідів при застосуванні пародонтальних плівок на основі поліфункціональних біополімерів ХТЗ обґрунтовує перспективність подальших досліджень антиоксидантних властивостей даної інноваційної лікарської форми.

EFFECTS OF NOVEL QUINOID THIOSULFONATE DERIVATIVE ON ADP-INDUCED PLATELET AGGREGATION

¹NIKOLAEVA I. V., ¹HALENOVA T. I., ²BOLIBRUKH K. B.,
²POLOVKOVYCH S. V., ²NOVIKOV V. P., ¹SAVCHUK O. M.

¹Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;

²Lviv Polytechnic National University, Ukraine;

e-mail: irisha.nikolaeva@gmail.com

Given the increasing morbidity and mortality from thrombotic diseases, anti-platelet agents have been extensively researched and developed. Recently, in a large scale screening test, we have found that S-((1,4-dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-2-yl)methyl)4-aminobenzenesulfonothioate, a chemically synthesized thiosulfonate derivative of quinone, possessed an antiplatelet activity. We have observed that the studied compound at concentration of 100 μM had full inhibition effect on ADP-induced platelet aggregation. In the present study we aimed to obtain more information about the effects of this quinoid thiosulfonate derivative (QTD) on platelet aggregation function and mechanism of its action.

Studied compound, S-((1,4-dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-2-yl)methyl) 4-aminobenzenesulfonothioate, was synthesized at the Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology, of Lviv Polytechnic National University.

Citrated rabbit blood (3.8%, 1:9 v/v) was centrifuged at 150 g for 15 min in order to obtain platelet rich plasma (PRP). Platelet aggregation in PRP (250×10^9 platelets/L) was recorded under constant stirring conditions (500 rpm) at 37 °C by aggregometer AT-02 (Belarus). The aggregation was induced by adding 5 μM ADP and monitored the change of light transmission, measuring the maximal increase after the addition of the inducer. In the platelet aggregation assay, samples of PRP were preincubated for 2 min with 1% DMSO, solvent for quinine, alone (control) or varying concentration of studied compound (5, 10, 25, 50, 100 μM) and than stimulated with ADP. To study the time-dependent inhibitory effect of test QTD on platelet aggregation, samples of PRP were preincubated with 50 μM of studied compound for 0, 2, 3, 5, 20, 40, 60 min at 37 °C with continuous stirring and than stimulated with ADP. To investigate the effect of the test QTD on platelet disaggregation, samples of PRP were stimulated with ADP at 37 °C with continuous stirring for the formation of aggregates in PRP. Studied compound (50, 100 μM) or 1% DMSO alone (control) were added 90 s after the addition of inducer and changes in light transmission were recorded by aggregometer.

Obtained results suggested that test agent inhibited ADP-induced aggregation and the degree of inhibition was proportional to its concentration. As shown our results the inhibition increased linearly from 5 to 100 μM with the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) – 50 μM . The inhibitory effect of studied QTD was inversely associated with preincubation time. We have established that the inhibition levels of platelet aggregation observed after preincubation of PRP with test compound for 0, 2, 3 or 5 min did not differ from each other. On the other hand, the inhibitory effect of QTD was significantly reduced after more than 20 min of incubation. Moreover, after preincubation of PRP with the derivative for 60 minutes, the level of aggregation was identical to that in not treated PRP. Test compound at the concentration of 100 μM could also effectively disaggregate the preformed platelet aggregate caused by ADP as the inducer. As shown our results where PRP was incubated with ADP for 90 s, as soon as studied compound was added into the mixture, disaggregation occurred rapidly and extensively. In contrast, the addition of lower concentration of the aim derivative of thiosulfonate (50 μM) as well as 1% DMSO alone did not affect the aggregate.

Taken together, these findings suggest that S-((1,4-dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-2-yl)methyl) 4-aminobenzenesulfonothioate can serve ADP-receptors antagonist by inhibiting the action of inducer. But detailed mechanism of its action deserves additional investigations.

ЕНЗИМИ ТА ЦИТОКІНИ СЕЧІ ЯК РИЗИК-ФАКТОРИ УРАЖЕННЯ НИРКИ ПРИ ВРОДЖЕНИХ ВАДАХ ВЕРХНІХ СЕЧОВИХ ШЛЯХІВ У ДІТЕЙ

*НИКУЛІНА Г. Г., МИГАЛЬ Л. Я., СЕРБІНА І. Є., ПЕТЕРБУРГСЬКИЙ В. Ф.,
ДРАННІК Г. М., КАЛІЩУК О. А., КАЛІНІНА Н. А., САВЧЕНКО В. С.*

*ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ;
ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ;
e-mail: 0675076531@ukr.net*

Впровадження в медичну практику сучасних методів обстеження вагітних жінок, зокрема ультразвукової сонографії, дозволяє виявити у плода в пренатальному періоді зміни нирок та сечовивідних шляхів, які після народження дитини можуть або претерпіти регресію, або прогресувати і призводити до незворотного ушкодження паренхіми нирки з втратою, у подальшому, її видільної функції. У зв'язку з цим для раннього виявлення нефропатій у дітей з вродженими вадами верхніх сечових шляхів важливим є дослідження структурно-функціонального стану нирок за лабораторними показниками. Мета роботи – вивчити зміни екскреції з сечею реноспецифічних ензимів та цитокінів у дітей з вродженою обструкцією сечоводів.

Обстежено 44 пацієнти у віці від 4-х місяців до 15 років із пренатально діагностованою вродженою обструкцією сечоводів та 25 практично здорових дітей (контрольна група). У вранішній порції сечі визначали активність реноспецифічних ензимів – N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ), β -галактозидази (β -Гал), γ -глутамілтранспептидази (ГГТ), нейтральної- α -глюкозидази (Н- α -Глю), а також вміст цитокінів – профіброгенного трансформуючого фактора росту- β -1 (ТФР- β -1) та протизапального фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α).

Отримані результати показали, що у здорових дітей сечова активність ензимів становила: НАГ – $11,64 \pm 0,72$, β -Гал – $9,58 \pm 0,68$, ГГТ – $22,9 \pm 2,0$, Н- α -Глю – $84,9 \pm 6,4$ мкмоль за 1 год інкубації при 37°C з розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі; вміст ТФР- β -1 та ФНП- α дорівнював відповідно $3,85 \pm 1,7$ та $9,7 \pm 1,12$ пг/мл сечі. У дітей з вродженою обструкцією сечоводів ці показники були значно підвищені в порівнянні з контролем: активність НАГ зростала до $31,06 \pm 1,43$, β -Гал до $17,6 \pm 1,35$, ГГТ до $91,2 \pm 6,7$, Н- α -Глю до $200,7 \pm 13,2$ та вміст цитокінів ТФР- β -1 та ФНП- α підвищувався відповідно до $15,4 \pm 1,9$ та $99,18 \pm 26,7$ ($P < 0,05$ – $0,001$). Статистично вірогідне підвищення екскреції цитокінів та реноспецифічних ензимів вказує на наявність ураження каналців нефронів та ймовірність фібропластичних та нефросклеротичних процесів у нирці з боку вродженої обструкції сечоводу. Отже, встановлено, що вищевказані ензімоімуннологічні показники сечі можуть слугувати маркерами раннього ураження нирок та ризику розвитку нефросклерозу у дітей з аномалією верхніх сечових шляхів.

Аналіз індивідуальних даних обстежених пацієнтів показав наступне. Якщо у дітей з пренатально встановленою обструкцією сечоводів рівні реноспецифічної ензимурії були постійно вище верхньої межі норми, це свідчило про наявність структурно-функціонального ураження нирки і про доцільність хірургічної корекції уродинаміки верхніх сечових шляхів, що підтверджувалось також даними ультразвукового дослідження. Якщо рівні досліджуваних ензимів сечі були в межах норми, це вказувало на відсутність ураження нирки і можливість застосування медикаментозної ренопротекції. Таким чином, дослідження в динаміці рівня екскреції з сечею вищевказаних реноспецифічних ензимів та цитокінів у дітей з пренатально виявленою обструкцією сечоводів являється малоінвазивним лабораторним методом, що дозволяє діагностувати ранні стадії розвитку нефропатій і тим самим визначити спрямованість лікувальної тактики або в бік хірургічної корекції, або в бік консервативної терапії.

РАЗВИТИЕ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА И ПЕРОКСИДНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ

¹ОВСЯННИКОВА Т. Н., ²ДОРОШ Е. Г., ¹ЗАБЕЛИНА И. А.,
¹КОВАЛЕНКО А. А., ²КРАВЧУН Н. А.

¹Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: ta_ov10@mail.ru;

²ГУ «Институт проблем эндокринной патологии
им. В. Я. Данилевского НАМН Украины», Харьков

Одну из главных ролей в развитии неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) отводят пероксидному окислению липидов (ПОЛ), усиливающемуся за счет образования активных форм кислорода (АФК) в печени, в частности. Предполагаемые места их образования – митохондрии и эндоплазматический ретикулум гепатоцитов, а также клетки Купфера, активно перерабатывающие эритроциты с высвобождением железа. Цель работы – установить, действительно ли пул эритроцитов более активно обновляется при НАСГ, чем у больных с сахарным диабетом 2 типа (СД 2) как монопатологией и у здоровых лиц; а также выяснить, как может перераспределяться пул полиненасыщенных жирных кислот при активации ПОЛ на разных этапах заболевания и можно ли это использовать как стадиоспецифичный диагностический фактор.

Обследовано 153 больных с СД 2, из них 126 пациентов с НАСГ и 27 больных с СД 2 без патологии печени, а также – 10 здоровых лиц – контрольная группа. Резистентность эритроцитов исследовали дифференциальным методом определения качественного состава красной крови на агрегометре-фотометре Shapemeter-01В. Эритрограммы, полученные в результате компьютерной обработки данных кинетики кислотного гемолиза эритроцитов, характеризуют процентное распределение эритроцитов образца крови по стойкости. Первичные продукты ПОЛ в плазме крови – диеновые, оксодиеновые, триеновые и тетраеновые конъюгаты жирных кислот (ДК, ОДК, ТК и ТЕТ соответственно) измерялись спектрофотометрически после экстракции проб в смеси гептан:изопропанол. Расчет концентраций проводили с использованием величины коэффициентов молярной экстинкции, ϵ_0 , продуктов, по закону Ламберта-Бэра (за исключением ТЕТ, для которого ϵ_0 не определен).

Анализ эритрограмм, полученных при кислотном гемолизе красных клеток, показал наличие большого пула молодых клеток с пониженным гемоглобином у больных с НАСГ. Кроме того, в контроле лаг-период гемолиза составлял $132,08 \pm 0,099$ сек, а скорость гемолиза – $2,280 \pm 0,068$ ед.опт. пл. $\times 10^3$ за 1 сек, тогда как при СД 2 и СД 2 в сочетании с НАСГ эти показатели были $129,020 \pm 0,095$ и $2,360 \pm 0,077$ в первом случае и $115,56 \pm 1,41$ и $1,69 \pm 0,061$ во втором соответственно. Все это действительно может говорить о более быстром обновлении клеток в костном мозге и, соответственно, более активном эритрофагоцитозе в печени. Освобождающееся в таком случае из эритроцита железо может активировать ПОЛ, инициировать воспаление и фиброз. Нами установлено повышение уровня показателей ПОЛ у больных с НАСГ по сравнению со здоровыми лицами: ДК – $306,4 \pm 19,32$ нмоль/л, ТК – $1,80 \pm 2,75$ нмоль/л, ТЕТ – $2,77 \pm 1,90$ ед. опт. пл. $\times 10^{-3}$ /л, ОДК – $79,6 \pm 4,8$ нмоль/л против $57,60 \pm 20,03$ нмоль/л, $31,02 \pm 10,9$ нмоль/л, $1,01 \pm 0,43$ ед. опт. пл. $\times 10^{-3}$ /л, $49,75 \pm 19,3$ нмоль/л соответственно. При этом у больных с монопатологией, СД 2, лишь показатели ДК были достоверно выше относительно контроля, но ниже, чем у больных с НАСГ – $212,40 \pm 12,09$ нмоль/л. Анализ клинико-антропометрических показателей и данных ПОЛ позволил выделить диагностически информативные подгруппы внутри выборок величин каждого из изученных метаболитов. Было сформировано четыре подгруппы, показатели ПОЛ и эритрограмм которых можно использовать для определения стадий развития НАСГ.

Показано, что анализ уровня конъюгатов полиненасыщенных жирных кислот в плазме крови больных НАСГ дает возможность определять стадию развития заболевания.

ЦИТОТОКСИЧНИЙ ЕФЕКТ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ ПРИ ГОСТРОМУ СТРЕСІ

ОМЕЛЬЧЕНКО О. Є., ЦУБЕР В. Ю., БІЛЕЦЬ М. В., ТАРАСЕНКО Л. М.

*ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава;
e-mail: bcr-p@i.ua*

Шлунок характеризується високою чутливістю до стресорних впливів, що проявляється у розвитку виразок слизової оболонки. Нами обґрунтована роль ішемії слизової оболонки у патогенезі стресорних виразок шлунка (Тарасенко Л. М., Омельченко О. Є., 2010). Мета роботи – дослідити роль пероксиду водню, який має цитотоксичний та вазоконстрикторний ефект, що впливає на розвиток виразок слизової оболонки та стан слизового бар'єра шлунка за гострого стресу.

Дослідження проводили на 14 статевозрілих щурах-самцях Вістар масою 220–240 г. Гострий іммобілізаційний стрес у дослідній групі тварин (8 щурів) моделювали за методом Г. Сельє (1960). Контролем слугували інтактні щури. Дослідження проводили з дотриманням правил біоетики. Вміст пероксиду водню в цільній крові визначали за методом E. Graf (1980). Кількісну оцінку виразок слизової оболонки шлунка здійснювали на підставі їх частоти і множинності (Пшенникова М.Г. і співавт., 2002). У слизовому гелі шлунка визначали вміст вільної фукози – мономера фукопротеїнів (Шараєв П.Н. і співавт., 1997). Статистичний аналіз результатів досліджень проводили за допомогою *t*-критерію Стьюдента.

У щурів під впливом гострого стресу концентрація пероксиду водню в крові вірогідно перевищувала на 53% відповідний показник контрольної групи ($0,26 \pm 0,02$ у.о./л та $0,17 \pm 0,02$ у.о./л; $P < 0,05$). За цих умов частота виразок слизової оболонки шлунка у щурів, яких піддавали впливу іммобілізаційного стресу становила 87,5%, а множинність виразок (кількість на одну тварину) – $1,5 \pm 0,25$. У контрольній групі тварин утворення виразок не спостерігалось.

Паралельно з розвитком виразок шлунка у слизовій оболонці стресованих щурів вміст вільної фукози підвищився в 1,3 раза порівняно з контролем (з $2,85 \pm 0,27$ мкмоль/л до $3,74 \pm 0,49$ мкмоль/л; $P < 0,05$), що характеризує порушення балансу між утворенням і секрецією протеїново-вуглеводних компонентів шлункового слизу та їх деградацією. Шар шлункового слизу – це не тільки структурний, але і функціональний елемент, який здатен нейтралізувати іони водню. Порушення його структури внаслідок невідповідності між підвищеною деградацією глікопротеїнів та їх оновленням за умов гострого стресу сприяє агресивній дії хлористоводневої кислоти.

Таким чином, зростання вмісту цитотоксичного пероксиду водню при гострому іммобілізаційному стресі пов'язано із порушенням структурної цілісності шлунка, деградацією фукопротеїнів та послабленням захисної функції його слизового бар'єра.

COMPENSATORY EFFECT OF N-STEAROYLETHANOLAMINE ON RAT PLASMA LIPID PROFILE UNDER OBESITY-INDUCED INSULIN RESISTANCE

ОНОПЧЕНКО О. В., КОСЯКОВА Г. В., КЛИМАСHEVSKY V. M., HULA N. M.

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: onop.89.av@mail.ru*

The development of obesity and dyslipidemia is associated with the disturbances of plasma lipid profile – the causative factor of the insulin resistance progression in tissues. N-acyl ethanolamines (NAE) – minor bioactive lipids, members of endocannabinoid system that affect lipid metabolism. In our study, we investigated the influence of N-stearoylethanolamine (NSE), a saturated NAE, on plasma triglyceride (TG) and free fatty

acid (FFA) composition of rats with experimental insulin resistance (IR) induced by prolonged high-fat diet (58% of fats).

After 6 months, the confirmation of IR existence was estimated by the results of oral glucose tolerance test. The rats with impaired glucose tolerance were selected and divided into 2 groups: «IR» and «IR+NSE». Control rats, which received standard pellet diet (4% of fats) and had a normal tolerance to glucose, were divided into «Control» and «NSE» group. Rats from «NSE» and «IR+NSE» groups were orally administered the water suspension of NSE for 2 weeks at an optimal reacting dose of 50 mg body weight kg⁻¹ per day. The plasma insulin and TG level was assayed using standard commercial kits. The FFA composition in plasma was analyzed by gas-liquid chromatography and the estimated desaturase (D) activity was calculated, using product-to-precursor indexes.

The results of these studies indicate that the development of IR in rats was accompanied by a significant increase in the level of TG in blood plasma by almost 68%, which was one of the reasons for the growth of total lipids (42%) compared to control animals. As well a significant change in the composition of individual FFA in rat plasma, particularly, an increase in the 18:0, 18:1n-9, 18:3n-6, 20:3n-6 and a reduction in 18:2n-6 and 20:4n-6 was found. The increased content of plasma monounsaturated FA (MUFA) in «IR» group was associated with the enhanced activity of $\Delta 9$ D and high TG level ($r = 0.68$; $P < 0.05$) due to the use of MUFA as the substrates for TG synthesis. The 18:3n-6 also acts as a substrate for the TG synthesis. Thus, increased level of 18:3 alongside with the enhanced $\Delta 6$ D activity may promote the flow of 18:3 to insulin sensitive tissues and the accumulation of TG. Moreover, the results of the study showed the decreased level of 20:4n-6 in «IR» rats with the simultaneous increase in the level of its precursors – 18:2 and 20:3 because of $\Delta 5$ D inhibition. These results may be explained by the use of 20:4 for the synthesis of proinflammatory eicosanoids. The NSE administration to rats with IR contributed considerable reduction in plasma total lipids by 30% and triglycerides by 63%. Furthermore, under NSE action the MUFA (18:1n-9) synthesis pathway was reduced because of decreased 18:1n-6, 18:0 level, $\Delta 9$ D activity and increased 16:0 content. In rats from «IR+NSE» group the level of 18:2n-6 and 18:3n-6 was decreased, whereas 20:4n-6 content was increased due to the normalization of the estimated $\Delta 5$ D activity.

Therefore, the obtained results confirmed the ability of NSE to compensate the lipid imbalance under IR conditions that we suggested may be associated with its regulation of the main Acyl-CoA D activities. A reduced content of MUFA and TG in blood plasma under NSE action indicated the normalization of lipid metabolism and improvement of insulin sensitivity in tissues of rats with obesity-induced IR.

РЕГУЛЯЦІЯ ГЛУТАТІОНОВОЇ АНТИПЕРОКСИДНОЇ СИСТЕМИ СПЕРМАТОЗОЇДІВ ЧОЛОВІКІВ ПРИ ЕКСКРЕТОРНО-ТОКСИЧНІЙ ФОРМІ НЕПЛІДНОСТІ

*ОНУФРОВИЧ О. К., МАКАР Н. Г., ФАФУЛА Р. В.,
ВОРОБЕЦЬ Д. З., ВОРОБЕЦЬ З. Д.*

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: onufrovych@uandex.ua*

Відомо, що кількість безплідних шлюбів в Україні постійно зростає. Причиною цього в 40–60% випадків є порушення статевої функції чоловіків. Патологічні процеси, які відбуваються у сім'яниках і придаткових залозах, змінюють структуру і форму сперматозоїдів, що знижує їх рухливість і здатність до запліднення. Загальноприйняті лабораторні методи діагностики неплідності, не завжди вказують на причину зниження життєздатності і біологічної повноцінності сперматозоїдів, не розкривають механізм змін, а також недостатньо точно і повно його відображають.

У цьому зв'язку відомо, що пероксидна окисація ліпідів (ПОЛ) – універсальний механізм ушкодження клітинних мембран за різних патологій. У знешкодженні вторинних продуктів пероксидації

та інших окислених речовин головну роль відіграє глутатионова антипероксидна система. Враховуючи те, що Ca^{2+} регулює рухливість сперматозоїдів, процеси гіперактивації та капацитації, акросомну реакцію тощо метою досліджень було вивчення залежності ПОЛ від концентрації Ca^{2+} .

Згідно з результатами досліджень, вміст малонового діальдегіду в сперматозоїдах зростає з 113,4 нмоль/мг протеїну в контрольних пробах до $182,6 \pm 4,2$ нмоль/мг протеїну за наявності 0,5 мМ Ca^{2+} . При олігозооспермії він був значно вищим і складав $235,6 \pm 6,1$ нмоль/мг протеїну. Глутатіонпероксидазна активність лінійно зростала зі збільшенням концентрації Ca^{2+} до 0,01 мМ і сягала $6,8 \pm 0,7$ мкмоль GSH/мг протеїну за 1 хв. Збільшення концентрації Ca^{2+} (0,5 мМ) зумовлювало зниження глутатіонпероксидазної активності до $2,2 \pm 0,2$ мкмоль GSH/мг протеїну за 1 хв. Додавання Ca^{2+} у середовище інкубації в концентраціях 0,1–2 мМ пригнічувало глутатіонтрансферазну активність. Цей показник був найбільшим за відсутності Ca^{2+} , тобто у контрольних зразках – він становив $0,56 \pm 0,04$ мкмоль GSH/мг протеїну за 1 хв. Із збільшенням концентрації Ca^{2+} до 0,1 мМ спостерігалось зростання глутатіонредуктазної активності до $0,55 \pm 0,04$ мкмоль NADPH/мг протеїну за 1 хв, подальше збільшення вмісту Ca^{2+} призводило до зниження активності ензиму.

Таким чином, встановлений чіткий взаємозв'язок між концентрацією Ca^{2+} і пероксидацією ліпідів, а також активністю глутатіонзалежних ензимів. Під час патоспермії спостерігається зниження активності всіх ензимів антиоксидантної системи на фоні зростання ПОЛ та продукції АФК. Це, безперечно, є однією з причин зниження функціональної активності сперматозоїдів.

СОДЕРЖАНИЕ СУММАРНОЙ ФРАКЦИИ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТЕРОНА В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

ОРИШАКА О. В., ВОВЧУК И. Л.

*Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;
e-mail: olesyabioshim@rambler.ru*

Рак молочной железы является одним из самых распространенных опухолевых процессов у женщин и занимает первое место в Украине среди онкологических заболеваний репродуктивных органов (Хайленко и др., 2005). Современные гипотезы этиопатогенеза рака молочной железы основываются на дисгормональных изменениях, возникающих в женском организме на различных этапах развития и свидетельствуют о «пробластомогенной» активности стероидных гормонов. Цель исследования состояла в изучении содержания прегнандиола и суммарной фракции эстрогенов в доброкачественных и злокачественных новообразованиях молочной железы женщин.

Материалом для исследования служили образцы резецированных в ходе операции 59 наиболее распространенных форм доброкачественных и 60 злокачественных – (дольково-протоковая форма аденокарциномы) новообразований молочной железы женщин в возрасте 37–45 лет, с овариальным циклом – 28, которые не получали дооперативного медикаментозного лечения. Верификация диагнозов (согласно классификации ВОЗ) и этические нормы обеспечивало медицинское учреждение, предоставившее материал для исследования, а пациентки были предупреждены и дали письменное согласие на проведение биохимических исследований. В хлороформных экстрактах определяли содержание суммарной фракции эстрогенов (по методу Jayle, Сгеру) и прегнандиола (по методу Преображенского). Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

Среди доброкачественных новообразований наибольшее содержание суммарной фракции эстрогенов и прегнандиола обнаружено при полипозе. В дольково-протоковой форме аденокарциномы (злокачественная опухоль) по сравнению с доброкачественными новообразованиями содержание суммарной фракции эстрогенов и прегнандиола было в 2,0 раза выше. Начальные этапы развития опухоли характеризовались высоким содержанием суммарной фракции эстрогенов и незначительным

содержанием прогестерона. Это можно объяснить интенсификацией синтеза эстрогеновых гормонов из их предшественника – холестерина под действием соответствующих ферментов цикла превращения: P450 XVIIA1, стероид-С₁₇-С₂₀-лиаза, дегидрогеназа, ароматаза (Lonning, 1996). Прогрессия опухоли сопровождалась сохранением высокого содержания прегнандиола и снижением содержания суммарной фракции эстрогенов, а стадия некроза опухоли – снижением в 3,0 раза содержания суммарной фракции эстрогенов, по сравнению с ранними этапами развития опухоли. Была установлена обратнопорциональная зависимость между степенью дифференцировки злокачественной опухоли и содержанием суммарной фракции эстрогенов, что может быть объяснено усилением транспорта предшественника эстрогенов и собственно эстрогенов в ткань молочной железы.

Полученные результаты подтверждают необходимость определения внутритканевого содержания суммарной фракции эстрогенов, способствующего уточнению клинического диагноза, определению гормонозависимости опухоли и разработке индивидуальной тактики дальнейшего гормонального лечения пациенток.

КОРРЕКЦИЯ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У КРЫС ИМПЛАНТАЦИЕЙ АЛЬГИНАТ-ЖЕЛАТИНОВЫХ МАТРИЦ, ЗАСЕЛЕННЫХ КЛЕТКАМИ ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ

*¹ОЧЕНАШКО О. В., ¹ГРИЦАЙ Д. В., ¹ЛЕБЕДИНСКИЙ А. С., ¹РОГУЛЬСКАЯ Е. Ю.,
¹ПЕТРЕНКО Ю. А., ²ЛОЗИНСКИЙ В. И., ²ИВАНОВ Р. В., ¹ПЕТРЕНКО А. Ю.*

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;

²Институт элементоорганических соединений

им. А. Н. Несмеянова, РАН, Москва;

e-mail: ochenashko@ukr.net

В настоящее время единственным методом коррекции терминальных стадий печеночной недостаточности (ПН) остается ортотопическая трансплантация печени. Однако такой подход имеет ряд серьезных ограничений. В связи с этим остается актуальным поиск новых эффективных способов коррекции ПН. Среди таких методов большое внимание уделяется разработке различных биоинженерных эквивалентов печени, способных обеспечить долговременное поддержание жизнеспособности гепатических клеток с сохранением ими печеньеспецифических функций. Целью работы явилось изучение эффективности использования широкопористых альгинат-желатиновых матриц, заселенных криоконсервированными клетками фетальной печени (КФП), для коррекции печеночной недостаточности у крыс.

КФП выделяли из плодов крыс 15 дней гестации и криоконсервировали. Перед использованием в эксперименте КФП отогревали, отмывали от криопротектора и оценивали их жизнеспособность ($73,3 \pm 3,6\%$, тест с трипановым синим). После этого клетки заселяли в макропористые альгинат-желатиновые губки диаметром 5 мм и толщиной 2 мм. Исследования по имплантации альгинат-желатиновых матриц с иммобилизованными КФП и без них проводили на взрослых крысах-самцах со сформированной моделью печеночной недостаточности. Модель поражения печени индуцировалась введением 2-ацетиламинофлуорена (ААФ) и последующей частичной гепатэктомией (ЧГЭ). Одновременно с проведением ЧГЭ в большой сальник имплантировали макропористые альгинат-желатиновые матрицы. Животным 1 группы имплантировали матрицы без клеток, а животным группы 2 – матрицы с иммобилизованными в них КФП. Период наблюдения за животными после имплантации губок составил 4 недели. На 7, 14, 21 и 28 сутки в сыворотке крови животных определяли ряд биохимических показателей (альбумин, билирубин, АСТ, АЛТ). Гистологические исследования проводили на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином.

Альгинат-желатиновые широкопористые матрицы после имплантации в сальник здоровых крыс заселялись клетками хозяина. Это удалось предотвратить путем их покрытия оболочкой альгинат-

ного геля. Альгинатная оболочка не влияла на поведение фетальных клеток печени в ходе объемного культивирования: после заселения они адгезировали и пролиферировали на поверхности пор. Имплантация макропористых матриц, заселенных криоконсервированными КФП крыс и покрытых альгинатным гелем, в сальник крыс с ПН приводила к увеличению выживаемости животных, значительному улучшению гепатоспецифических показателей крови, и сопровождалась позитивными изменениями морфологии печени. Через 4 недели в имплантированных матрицах были выявлены клетки и образованный ими экстраклеточный матрикс.

Приведенные результаты демонстрируют, что криоконсервированные клетки фетальной печени, заселенные в широкопористые альгинат-желатиновые матрицы, оказывают терапевтический эффект при имплантации животным с печеночной недостаточностью, а покрытие матриц альгинатной оболочкой обеспечивает изоляцию заселенных клеток и может явиться полезным приемом при разработке биоинженерных эквивалентов печени.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ВЫЖИВАЕМОСТИ СТАРЕЮЩИХ КРЫС ПОСЛЕ МНОГОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ

¹*ОЧЕНАШКО О. В.*, ²*НИКИТЧЕНКО Ю. В.*, ¹*ЛЕБЕДИНСКИЙ А. С.*,
²*ШЕРЕМЕТ А. А.*, ¹*ПЕТРЕНКО А. Ю.*

¹*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;*
²*НИИ биологии, Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;*
e-mail: ochenashko@ukr.net

Ранее в нашей лаборатории было показано, что клетки фетальной печени (КФП) нормализуют состояние про-/антиоксидантной системы и улучшают физиологическое состояние животных с разными экспериментальными патологиями [Оченашко, 2011]. Учитывая существенную роль про-/антиоксидантной системы в механизмах старения, представилось актуальным исследовать влияние КФП на организм стареющих животных. Цель работы – исследовать влияние многократного введения КФП на выживаемость, про-/антиоксидантную систему печени и крови, а также процессы детоксикации стареющего организма крыс.

КФП выделяли из эмбрионов человека неэнзиматичным методом и криоконсервировали. Показатель жизнеспособности КФП после отогрева составлял $68 \pm 6\%$ (тест с трипановым синим). КФП вводили в бедренную вену крыс с 13-мес. возраста (10 млн клеток/0,3 мл) 4 раза с интервалом 3 мес. Одновременно с этой манипуляцией производили забор крови. Контрольной группе животных вводили среду в эквивалентном объеме. В печени и сыворотке крови животных измеряли содержание ТБК-активных продуктов пероксидного окисления липидов (ПОЛ), Se-зависимую глутатионпероксидазную (Se-ГП), глутатионредуктазную (ГР), супероксиддисмутазную (СОД) и каталазную (КАТ) активность. Амидопирин-N-деметилазную активность и содержание цитохрома P-450 определяли в печени 25-мес. животных. При исследовании выживаемости КФП вводили крысам с 22-мес. возраста (интервал 3 мес.) до смерти. Этот показатель у животных оценивали по методу Каплана-Мейера, а физиологическое состояние крыс характеризовали по степени густоты шерстного покрова, изменению массы тела и ректальной температуры. Для сравнения кривых выживаемости использовали критерий Гехана с поправкой Йейтса, а для других показателей – *t*-критерий Стьюдента.

Полученные данные демонстрируют, что серийное введение КФП замедляет развитие возрастных изменений про-/антиоксидантной системы крови: содержание ТБК-активных продуктов ПОЛ в сыворотке к концу эксперимента на 17% ниже, чем в контроле ($P < 0,05$), активность СОД и Se-зависимой ГП остается на уровне активности, характерной для 13-мес. крыс. При исследовании печени 25-мес

крыс устанавлено, што многакратнае введенне КФП прыводзіць да павелічэння надзейнасці антиаксидантнай і моноксигеназнай сістэм па сярэньні з кантралюемымі жывотнымі. Выжываемасць крыс, доўгае час падавалі КФП, была даставэрна вышэй, чым у кантралюемай групе. Пры гэтым, у стареючых жывотных, якім ввядзілі КФП, адзначалі палепшэнне стану шерстнага пакрыва, запавольванне падавання масы тэла і зніжэнне ректальнай тэмпературы па сярэньні з кантралюемымі жывотнымі.

У цэлым, атрыманыя даныя дэманструюць, што многакратнае введенне КФП стареючым жывотным прыводзіць да зніжэння канцэнтрацыі прадуктаў ПОЛ, павелічэння надзейнасці антиаксидантнай і моноксигеназнай сістэм і павелічэння выжываемасці падопытных крыс. Гэта можа сведчыць аб эфектыўным геропротектарным дзеянні КФП, прымяняемага са другой паловы жыцця – перыода, найбольш цікавага для герыятрав.

ВПЛИВ СУКЦИНВІСНИХ СПОЛУК НА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗИ ТА ТРОМБОЦИТАРНО-КОАГУЛЯЦІЙНИЙ ГЕМОСТАЗ

ПАЛАГІНА І. А., ЛАЛІМЕНКО О. С., КУДРЯ М. Я.

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології
ім. В. Я. Данилевського НАМН України», Харків;
e-mail: lab-tox@ukr.net*

Сукцинвісні сполуки маюць шырокі спектр біялогічнай актывнасці: антидіабетычнай, антиаксидантнай, протызапальнай, антигіпоксичнай, карды-, гепатопротектарнай та іншых. Створана арыгінальная антидіабетычная засіб фенсукцінал (ФС) – β-фенілетіламід 2-оксисукцінанілавоў кыслоты, які часткова трансфармуецца ў 2-гідрокіфенілсукцінамід (2-ГФСА) та β-фенілетілсукцінамід (β-ФЕСА), які маюць уплываць на яго спецыфічную актывнасць. Вывучана уплываць ФС та яго метабалітаў на стан гемостазу та актывнасць NO-сінтазы. Эксперыменты праводзілі на білых статавозрэлых шурх-самцах ў умовах 30-разовага *per os* ввядзення ФС, 2-ГФСА та β-ФЕСА ў дозах 25, 17 і 18 мг/кг. Вызначалі час аграгацыі тромбацытаў (ЧАТ), АПТЧ, час рекальцыфікацыі (ЧР), протромбацынавы час (ПЧ) і тромбацынавы час (ТЧ) на коагулометры Coag Chrom 3003 (Польшча). У гомогенатах печынка даследвалі актывнасць NO-сінтазы (NOS) за шчырдкістю акыслення NADPH+H⁺, вміст NO₂⁻ і NO₃⁻ у плазмі кроўі, сечі та печынцы.

Встанавлена, што ў умовах ввядзення ФС ў эфектыўнай дозі значна падаўжываўся ЧАТ та АПТЧ, што сведчыць пра гіпакоагуляцыйны змяненні за рахунак зніжэння аграгацыйнай актывнасці тромбацытаў та гальмування внутрышняга механізму коагуляцыі. 2-ГФСА зумовляваў скарачэння АПТЧ, ЧР і ПЧ ў межах фізіялогічнай нормы, але ТЧ помітна падаўжываўся. Пад уплывам β-ФЕСА зарэестравана значуша скарачэння ЧАТ, АПТЧ, ПЧ і ТЧ, тавто павышывалася актывнасць тромбацытарнай та коагуляцыйнай ланкі гемостазу. Даследваннямі метабалізму NO паказана, што ФС та яго метабаліты, інгібуюць актывнасць NOS печынка, што пазначаецца на зніжэнні рывня NO₂⁻ і NO₃⁻ у плазмі кроўі, сечі та печынцы. Дана актывнасць ФС певнаю міраю абумовлена уплывам яго метабалітаў, які дуюць як блакатары NOS, запавігаючы іі тавсичным эфектам. Інгібування NOS пав'язана із зніжэння інтэнсывнасці вільнорадыкальнага акыслення та паліпшэнням энэргаобміну ў печынцы, але не залучаецца ў антааграгацыйны та антакоагуляцыйны эфекты ФС, у якіх вагому роль відіграе NOS тромбацытаў і эндателію судын.

Такым чынам, ФС спрыяе упавільненню аграгацыі тромбацытаў та гальмування внутрышняга механізму коагуляцыі незалежна від характэру уплыва на гемостаз яго метабалітаў. Крім таго, ФС зніжуе актывнасць NOS печынка, што, ймавірна, абумовлена адносправаванаю дую яго метабалітаў, але не пазначаецца на антатромбагеннай актывнасці лікарскага засобу.

ОТРИМАННЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБІНАНТНИХ ОДНОЛАНЦЮГОВИХ ВАРІАБЕЛЬНИХ ФРАГМЕНТІВ АНТИТІЛ (scFv) ПРОТИ МРТ63

ПАЛИВОДА К. О., ОЛІЙНИК О. С., КОЛИБО Д. В., КОМІСАРЕНКО С. В.

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

МРТ 63 є специфічним для *Mycobacterium tuberculosis* секреторним протеїном із невизначеною на сьогодні функцією. Оскільки МРТ 63 має структурну подібність з багатьма протеїнами, що містять імуноглобулінподібні домени, припускають, що він може бути залучений до взаємодій патоген-хазяїн. У зв'язку з цим, МРТ 63 розглядається як перспективний антиген для створення діагностикумів та протитуберкульозних вакцин. Проте роль гуморального імунітету проти МРТ 63 за умов мікобактерійного інфікування залишається досі нез'ясованою. Метою цієї роботи було виділити та вивчити деякі властивості рекомбінантних одноланцюгових варіабельних фрагментів антитіл (scFv-антитіл) людини, специфічних до МРТ 63.

З фагової імунної бібліотеки scFv-антитіл здорових вакцинованих БЦЖ донорів (розміру 10^9 клонів) відібрано клони-продуценти scFv-антитіл. Всі відібрані клони зв'язували цільовий антиген в імуноензиматичному аналізі, але не розпізнавали у вестерн-блотингу. Той факт, що scFv-антитіла, специфічні до МРТ 63, не розпізнають денатуровану форму цього антигену, вказує на те, що епітоп для них є не лінійним, а конформаційним. Надалі необхідним є з'ясування за допомогою біоінформаційних підходів, які саме амінокислотні залишки у структурі МРТ 63 взаємодіють із scFv.

МРТ 63 є важливим антигеном для створення протитуберкульозних вакцин, зокрема, субдиничних. Разом з тим, значну увагу в цьому контексті приділяють наявності у послідовності МРТ 63 лінійних Т-клітинних епітопів. Зважаючи на те, що рекомбінантні scFv-антитіла було виділено із бібліотеки, сконструйованої на основі генетичного матеріалу вакцинованих БЦЖ донорів, отримані дані можуть вказувати на те, що під час вакцинації для формування репертуару антитіл до МРТ 63 важливими також є конформаційні епітопи, що не враховуються під час конструювання субдиничних вакцин.

На наступному етапі роботи було проведено рестриктний аналіз ДНК отриманих клонів і встановлено їх гетерогенність. Для подальшої характеристики із кожної групи довільним чином було вибрано по одному представнику. Афінність scFv різних клонів коливалася в межах від $1,3 \times 10^{-7}$ М до $9,6 \times 10^{-8}$ М.

Таким чином, у цій роботі було виділено ряд scFv-антитіл людини до протеїну мікобактерій МРТ 63. Отримані scFv-антитіла дозволяють наблизитись до розуміння ролі МРТ 63 та гуморального імунітету до нього у розвитку туберкульозної інфекції.

INFLUENCE OF CARBON NANOPARTICLES ON CHEMICALLY INDUCED HEPATOTOXICITY

PALYTSYA L. M., MATVIIIV N. Y., YASTREMSKA S. O., KORDA M. M.

*I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine;
e-mail: kordamm@yahoo.com*

Carbon nanoparticles (e.g. fullerenes (C_{60}), single- (SWCN) and multiple (MWCN) walled carbon nanotubes) have been used in many industry materials as well as in medicine, pharmacy, diagnostic products and cosmetics. Such consumer utilization can produce different ways of non-voluntary entry of these materials into the human body. Human exposure to nanoparticles is generally accompanied by exposure to other potentially toxic substances such as different chemicals, food additives and pharmaceutical agents. Toluene is

widely used as an organic solvent, and it has hepato- and neurotoxic effects. The kind of effect the coexistence of carbon nanoparticles and toluene has on organisms is still unknown. The interaction may happen during the process of absorption, distribution, metabolic transformation and excretion. Therefore, the aim of the present study is to investigate the potential synergistic acute toxicity of the interaction between carbon nanoparticles (C_{60} , SWCN, MWCN) and toluene (T) in adult rats.

The rats were randomly divided into five groups of 8 animals each: a control group and four treatment groups (T, C_{60} +T, SWCN+T, MWCN+T groups). T (0.5 ml/kg body weight), and T (0.5 g/kg) + C_{60} (60 mg/kg body weight), T (0.5 g/kg) + SWCN (60 mg/kg), T (0.5 g/kg) + MWCN (60 mg/kg) were administered to rats via intraperitoneal injection. 3, 6, 24 i 72 h after toluene and nanoparticles administration animals were sacrificed after being anesthetized by sodium thiopental. Serum alanine- (ALT) and aspartate (AST) aminotransferase activities, as well as serum protein, creatinine and urea levels were measured using commercially available kits.

A statistically significant increase in the serum ALT and AST activities were observed in all terms after i.p. injection of toluene compared to control. The aminotrasferases activity maximum was reached on the 3rd and 6th h after intoxication (ALT activity was increased 2.9 and 2.6 times and AST - 2.5 and 2.3 times respectively). On the contrary, the protein level was significantly decreased after toluene administration reaching the minimum on the 24th and 72th h (by 25 and 28% respectively) after toxin injection. We did not observe a significant difference between the creatinine and urea levels in serum of control and intoxicated animals. In C_{60} +T, SWCN+T, MWCN+T groups the ALT and AST activities were significantly increased compared with that of the toluene exposure group in all terms of experiment. The protein content was significantly lower in blood serum of C_{60} +T, SWCN+T, MWCN+T groups in comparison with animals exposed only to toluene. The most marked synergistic damage was observed in the liver of rats in MWCN+T group. Concentrations of creatinine and urea in serum of C_{60} +T, SWCN+T, MWCN+T groups trended to decrease compared to analogical indexes in T group but the changes were statistically insignificant.

In conclusion, we have demonstrated that toluene and carbon nanoparticles can synergistically interact to induce the damage in the liver. The further biochemical and other analysis should be performed to determine the mechanism of such synergistic effect. Probably that carbon nanoparticles could absorb a lot of toxin and serve as the carriers of toxin into hepatocytes. It is also possible that nanoparticles can interact in cells with DNA, RNA and other biopolymers leading to the changes of genes expression and translation processes. As result malfunction of enzymatic systems including enzymes responsible for xenobiotics detoxification can occur. Clearly, further evaluation of interactions between nanosized materials and pharmaceutical agents is required prior to the pharmaceutical application of nanotechnology.

НОВІ МОЖЛИВОСТІ ОПТИМІЗАЦІЇ ВІДНОВЛЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ПЕРЕЛОМАХ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ НАНОМАТЕРІАЛІВ

ПАНАСЮК Я. В., КОРДА М. М.

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського» МОЗ України;
e-mail: yaroslavko_777@yahoo.com*

Порушення репаративного остеогенезу у вигляді дисрегенерацій залишається однією із найскладніших проблем практичної травматології, вирішення якої потребує нових інноваційних підходів. Враховуючи те, що сама кістка є природним наноккомпозитом, то застосування наноматеріалів має великий потенціал для прискорення остеорегенерації. Метою роботи було дослідити можливість застосування наноаквахелатів металів (Ca, Cu, Co, Zn, Mg, Fe) для відновлення післятравматичного кісткового дефекту у щурів.

Експеримент проводився на білих статевозрілих щурах-самцях ($n = 56$). Всі тварини були поділені на три групи: I – інтактні тварини, II – контрольна група (тварини із змодельованим кістковим дефектом), III – тварини із кістковим дефектом, яких лікували наночастинками металів. Кістковий дефект (розміром 2,0 мм в діаметрі) зумовлювали стоматологічним бором у верхній третині великогомілкової кістки. Третя група тварин шляхом перорального введення отримувала суміш наноаквахелатів металів у дозі на протязі всього експерименту. Тварин декапітували на 7-, 14- та 28-й день. Були застосовані біохімічні методи визначення активності лужної та кислій фосфатаз, індексу мінералізації, колагенолітичної активності плазми крові, вмісту оксипроліну, вміст Ca та P у плазмі крові, а також рентгенологічні, гістологічні та статистичні методи дослідження.

Через 7 днів після нанесення травми спостерігали достовірне збільшення вмісту оксипроліну, C-реактивного протеїну та глікозамінгліканів у контрольній та лікованій групі у порівнянні із інтактними тваринами. Ці зміни відповідають фазі резорбції, при чому рівень цих показників був дещо вищим саме у контрольній групі. У гістологічних препаратах регенерату на цій стадії відмічали появу нових грануляційних тканин у кістковому дефекті великогомілкових кісток тварин, що отримували наноаквахелати, тоді як у контрольній групі зберігались незначні залишки гематоми, що вказує на сповільнення остеорегенерації. Рівень лужної фосфатази достовірно зростав у II та III групах досліджуваних тварин. На 14-й день експерименту відмічали нормалізацію всіх маркерів остеорезорбції у контрольній та досліджуваній групах, тоді як рівень лужної фосфатази та індекс мінералізації був значно більшим лише у експериментальній серії тварин. За гістологічного дослідження у тварин контрольної групи спостерігалось перевищення фіброретикулярних тканин, що свідчило про сповільнення регенерації кісткової тканини. На 28-й день після травми біохімічні зміни не мали статистичної достовірності. Тоді як при гістологічному дослідженні у тварин контрольної групи не відмічали повного відновлення травматичного кісткового дефекту, на відміну від тварин, що отримували наноаквахелати. Ці зміни підтвердились також рентгенологічно.

У результаті нашого дослідження встановлено ефективність застосування наноаквахелатів металів для стимуляції післятравматичного остеогенезу. Отримані позитивні результати потребують подальших ґрунтовних досліджень у цій галузі.

UNBOUND ANALOGS OF GLYCANS OF GLYCOCONJUGATES IN BIOLOGICAL FLUIDS

¹PISMENETSKAYA I. U., ²ASTRAUTSOVA S. A., ³BUTTERS T. D.

¹SI Dnepropetrovsk Medical Academy, Ukraine;
e-mail: pirina2004@list.ru;

²Grodno State Medical University, Belarus;

³Oxford Glycobiology Institute, United Kingdom

Cell protein homeostasis requires a precise balance between biosynthetic and degradation machineries in response to fluctuations in the environment and depending on a developmental status and physiological state of an organism. To maintain proteins in a functionally folded state, cells must recognize non-native structures and clearance misfolded molecules. During protein glycosylation and degradation of misglycosylated and /or misfolded glycoproteins by endoplasmic reticulum-associated degradation, a specific group of glycans, so-called free oligosaccharides (FOS), appears in the endoplasmic reticulum and cytosol. This group consists of high mannose N-glycans and their intermediates. These FOS can represent the endoplasmic reticulum status. Lysosomal degradation of mature glycoconjugates is another source of FOS. In this case the glycans maybe much more diverse and are not limited by N-structure analogs. This group of glycans can represent the state of endosome-lysosome system. In spite of the fact that there are mechanisms of complete FOS degradation to monosaccharides inside the cell, some of them flux outside the cell in blood plasma and urine.

The main objective of the work was an investigation of free oligosaccharides in plasma and urine obtained from patients with leukemia and cardiovascular diseases compared to those from healthy subjects to evaluate their role in protein homeostasis and the potential of these compounds for diagnostics and therapy monitoring. Chromatographic profiles of FOS composed of 4-12 monosaccharides were obtained and analyzed for quantitative and qualitative differences between the samples.

After plasma deproteinization and FOS purification the oligosaccharides were labelled with anthranilic acid (2-AA), separated into the neutral and charged with QAE Sephadex (Q25-120) chromatography and analysed using high-performance liquid chromatography (HPLC). Glucose unit values were determined following comparison with a 2-AA-labelled glucose oligomer ladder derived from a partial hydrolysate of dextran as an external standard. The charged FOS were digested with the sialidase from *Arthrobacter ureafaciens*. 2-AA – labelled free oligosaccharides from transferrin were used as an external standard for the structure decoding. The data were collected and processed using Empower software. Glycan structural prediction was based on the known FOS structures inside the cell and the electronic databases GlycoBase and EUROCarbDB.

FOS were found in plasma and urine both in normal and pathological conditions. They were represented by uncharged oligomannose and negatively charged species. HPLC-profiles of plasma FOS in normal conditions were stable and highly reproducible. In the case of the leukemia, a complex type biantennary N-glycan with one sialic acid was a notable peak. In the case of cardiovascular disorders, HPLC profiles of plasma FOS revealed a changing pattern of heterogeneity depending on the severity of the disease as well as the treatment response. Three main enlarged glycan species distinguished the FOS of the patients from those of the healthy volunteers. HPLC profiles of urine FOS were quite individual in all patients and completely different from those of plasma. This study demonstrated that the ratio of free oligosaccharides composed of 4-12 monosaccharides may be a homeostatic parameter of human plasma and a member of cell non-autonomous regulation of proteostasis. The only origins of FOS known so far are processes of glycoconjugate synthesis and degradation in cells. So this parameter can indicate the status of endoplasmic reticulum (the neutral FOS) and endosome-lysosome system (the charged FOS) at least for some blood cancers and cardiovascular diseases. Plasma FOS analysis of metabolic status, health alterations and treatment responses of the patients, might be a promising approach in the search for new biomarkers of diseases and a treatment effectiveness.

Acknowledgments: This work was supported by a short fellowship of the International Union Against Cancer (ICR/09/044), a short–visit fellowship of EMBO (201.00-2010) and Oxford Glycobiology Institute, University of Oxford, Oxford, UK.

РІВЕНЬ ЗАГАЛЬНОГО ГЕМОСТАТИЧНОГО, ЗГОРТАЮЧОГО І ФІБРИНОЛІТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ У ПЛАЗМІ КРОВІ ДОНОРІВ І ХВОРИХ ПРИ РІЗНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ

*ПІРОГОВА Л. В., ЧЕРНИШЕНКО Т. М., КОЛЕСНИКОВА І. М.,
ПЛАТОНОВА Т. М., ЛУГОВСЬКОЇ Е. В., МАКОГОНЕНКО С. М.*

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

Стан системи гемостазу в плазмі крові донорів і хворих можна охарактеризувати шляхом визначення загального гемостатичного потенціалу (ЗГП) (overall haemostasis potential), запропонованого М. Blomback. Він дозволяє охарактеризувати стан системи згортання і фібринолізу, їх зв'язок між собою і з концентраціями інших маркерів системи гемостазу у плазмі крові хворих. Метод базується на аналізі кривої і площі під кривою залежності величини поглинання світла згустком від часу, яка реєструє утворення згустку в плазмі крові у присутності тромбіну, тромбопластину або АЧТЧ реагенту чи утворення і руйнування його у присутності останніх і тканинного активатора плазміногену. В роботі наведено результати визначення величини потенціалу згортання (ЗП), фібринолітичного (ФП) і загального гемостатичного потенціалу (ЗГП), а також зв'язок між цими показниками і рівнем розчин-

ного фібрину і DD димеру в зразках плазми крові пацієнтів із захворюваннями тазостегнового суглобу (ТС), інфаркту міокарда (ІМ) та інсульту (І). У досліджах використовували АЧТЧ реагент фірми Ренам (РФ), рекомбінантний t-РА фірми Boehringer Ingelheim (ФРН). Криву залежності величини поглинання світла згустком від часу отримували спектрофотометрично, реєструючи при 405 нм поглинання світла згустком, що утворювався в вічках мікропланшету, в які послідовно додавали 0,05 М HEPES буфер, рН 7,4, що містив 0,15 М NaCl, АЧТЧ реагент, 70 мкл плазми крові і t-РА до кінцевої концентрації 75 IU/мл. Процес згортання плазми ініціювали додаванням 10 мМ CaCl₂. Кінцевий об'єм реакційної суміші становив 300 мкл. Було знайдено, що величина ЗП у донорів і хворих на ІМ, І та ТС складала 376 ± 13 (n = 6), 281 ± 168 (n = 29), 590 ± 193 (n = 10) та 482 ± 153 (n = 8) о.о.*с, ЗПП – 285 ± 19, 170 ± 65, 44 ± 117 і 374 ± 75 о.о.*с і ФП – 91 ± 7, 112 ± 42, 148±90 і 113 ± 112 о.о.*с відповідно. Звертає на себе увагу підвищений у 1,5 раза ЗП і подовжений у 7,2 раза лаг-період у хворих на І. На 7-й день лікування у хворих на ІМ величина ЗП поверталася до норми – 370 ± 130 о.о.*с, ЗПП зростав до 242 ± 84 о.о.*с, а величина ФП залишалася підвищеною до 128 ± 37 о.о.*с. Відношення величин ЗП/ФП, що вказувало на баланс активностей цих систем в плазмі крові донорів, хворих на ІМ, І, та ТС становило 4,12; 2,7 ± 0,71; 4,6 ± 1,3 і 4,13 ± 0,94. Ці дані вказують на підвищений рівень активності фібринолізу при ІМ та підвищену активність системи згортання при інсульті. Аналіз кореляції між величинами потенціалів системи гемостазу і концентраціями розчинного фібрину і D-димеру виявив зв'язок між величинами ЗП і концентрацією D-димеру – коефіцієнт кореляції 0,77, і такий між ФП і концентрацією D-димеру – коефіцієнт кореляції 0,87. Ці дані вказують на залежність концентрації D-димеру в плазмі крові від активності як системи згортання, так і системи фібринолізу одночасно. Величина ФП не пов'язана з концентрацією розчинного фібрину. Слід відмітити слабкий від'ємний зв'язок між ЗПП і концентрацією розчинного фібрину – коефіцієнт кореляції -0,68. У той же час коефіцієнт кореляції між концентраціями розчинного фібрину і D-димеру становив 0,77. Таким чином, простий і швидкий метод визначення величини ЗПП, ЗП і ФП у плазмі крові пацієнтів із захворюванням на ІМ, І та ТС може давати додаткову інформацію про стан згортаючої і фібринолітичної систем і їх балансу, яка разом з концентраціями розчинного фібрину і D-димеру може бути раннім показником напрямку зміни стану системи гемостазу хворого.

ЗНИЖЕННЯ ВМІСТУ ПРОТРОМБІНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ХВОРИХ НА ІНФАРКТ МІОКАРДА ПІСЛЯ ТРОМБОЛІТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ СТРЕПТОКИНАЗОЮ

¹ПЛАТОНОВА Т. М., ²ПАРХОМЕНКО О. М., ¹ГРИЦУК В. І.,
¹ЧЕРНИШЕНКО Т. М., ¹КОРОЛЬОВА Д. С., ¹ЛУГОВСЬКОЇ Е. В.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
²ННЦ «Інститут кардіології ім. М. Д. Стражеска НАМН України», Київ;
e-mail: platonovatn@gmail.com

Зміни в системі гемостазу при гострому інфаркті міокарда супроводжуються значною активацією системи зсідання крові, про що свідчить підвищення вмісту маркерів тромбофілії: розчинного фібрину та фрагмента протромбіну 1+2. Знижується також вміст інгібіторів зсідання крові (протеїну С та антитромбіну ІІІ). Метою нашої роботи було проведення аналізу вмісту розчинного фібрину, протромбіну та інгібіторів зсідання крові в плазмі крові хворих через 2 години та на третю і сьому добу після тромболітичної терапії стрептокіназою (n = 45) у комплексі з антитромботичною терапією нефракціонованим гепарином (ВМГ) та низькомолекулярним гепарином (НМГ).

Загальний вміст протромбіну визначали з використанням активатора протромбіну з отрути *Ehis multisquamatus*, який додавали в зразки плазми крові та вимірювали активність утвореного тромбіну за розщепленням хромогенного субстрату S2238. Контролем слугувала плазма крові донорів.

Вміст протромбіну в плазмі крові у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда до проведення тромболітичної терапії складав $100 \pm 11\%$. Після тромболізу та антитромботичної терапії НМГ (перша група хворих), виявлено значне зниження вмісту протромбіну в плазмі крові (медіана 55%; min 40%, max 89%, $P < 0,001$). У другій групі хворих, яким проводили антитромботичну терапію ВМГ не спостерігалось значного зниження вмісту протромбіну (медіана 82% ; min 59%, max 110%, $P < 0,001$). Відновлення вмісту протромбіну відбувалося через три дні до $80 \pm 12\%$ у хворих першої групи та повністю нормалізувалось у хворих другої групи ($100 \pm 13\%$).

Для розрахунку кореляції між вмістом протромбіну та накопиченням розчинного фібрину проведено статистичний аналіз в "Statistica 7". Виявлено кореляцію між зниженням вмісту протромбіну на другу годину тромболітичної терапії та зростанням вмісту розчинного фібрину на третю та сьому добу ($r = -0,55$ и $r = -0,70$ відповідно, $P < 0,05$).

Як свідчать отримані дані, вміст нативного протромбіну залежить від типу препарату антикоагулянта, що використовується. Використання ВМГ призводить до інгібування як тромбіну, так і активованого фактора X і, як наслідок, накопичення розчинного фібрину зменшується. При антитромботичній терапії НМГ інгібується лише активований фактор X, а не тромбін, тому вміст розчинного фібрину залишається високим.

Таким чином, виявлення зниження загального вмісту протромбіну в плазмі крові під час тромболізу є інформативним прогностичним показником активації системи зсідання крові і дає можливість контролювати ефективність антитромботичної терапії.

СОДЕРЖАНИЕ ВИТАМИНА А У ПОДРОСТКОВ С ДИФФУЗНЫМ НЕТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ

ПЛЕХОВА Е. И., КАШКАЛДА Д. А., ВОЛКОВА Ю. В., ТУРЧИНА С. И.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков;
e-mail: volkova1804@mail.ru*

Витамины, являясь составной частью многих биоструктур, участвуют в важнейших биохимических процессах, происходящих в организме, в частности в биосинтезе и метаболизме гормонов. Определенную роль в обмене гормонов щитовидной железы (ЩЖ) играет витамин А, который приводит к увеличению уровня сывороточного трийодтиронина, активности тиреоидной дейодиназы и натрий/йодид симпортера (протеина–транспортера йода) и, как следствие, к улучшению всасывания йодида клетками ЩЖ. Однако, недостаточно изученными остаются механизмы взаимосвязи витамина А и тиреоидных гормонов при диффузном нетоксическом зобе (ДНЗ) у детей и подростков. В связи с этим целью настоящего исследования являлось выяснение роли витамина А в формировании дистиреоза у подростков с ДНЗ.

Обследовано 59 подростков (35 девочек и 24 мальчика) 10–17 лет с ДНЗ, проживающих в условиях легкого йододефицита. Группу сравнения составили 41 ровесник (22 девочки и 19 мальчиков) без патологии ЩЖ, с нормальным половым и физическим развитием. В сыворотке крови определяли уровень витамина А, тиреотропного гормона (ТТГ) и свободного тироксина (fT_4). Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ «Statgraphics Plus 5.0». Для оценки достоверности использовали критерий Вилкоксона–Манна–Уитни (u). Корреляционный анализ проводился с помощью коэффициента Спирмена (r).

Учитывая тиреоидный статус больных с ДНЗ, проведен анализ концентрации витамина А от содержания ТТГ в сыворотке крови. При оптимальных значениях ТТГ (0,4–2,5 мМЕ/л) содержание ретинола составляло $1,54 \pm 0,14$ мкмоль/л, при минимальной тиреоидной недостаточности (2,5–4,0 мМЕ/л) – $1,31 \pm 0,15$ мкмоль/л, а при субклиническом гипотиреозе (свыше 4,0 мМЕ/л) – $0,94 \pm 0,14$ мкмоль/л. Выявленная динамика свидетельствует о прогрессирующем снижении концентрации ретинола от уровня ТТГ ($P_u < 0,05$). Полученные данные подтверждает проведенный корреляционный анализ. У

подростков с ДНЗ обнаружена отрицательная корреляционная связь средней плотности между уровнями витамина А и ТТГ ($r = -0,50$; $P < 0,002$).

Принимая во внимание физиологическое повышение синтеза гипофизарных гормонов в период полового развития, оценивалось состояние тиреоидной системы по величине соотношения ТТГ/ fT_4 . Значения индекса $ТТГ/fT_4 > 0,19$ свидетельствовали о функциональной напряженности тиреоидной системы и являлись признаком тиреоидной недостаточности. Учитывая вышесказанное, проведен анализ изменений уровня витамина А с учетом этого показателя у подростков с ДНЗ. Было выделено три группы больных: I – $ТТГ/fT_4 < 0,19$ (эутиреоз); II – $0,19 < ТТГ/fT_4 < 0,29$ (минимальная тиреоидная недостаточность); III – $ТТГ/fT_4 > 0,29$ (субклинический гипотиреоз). Установлено, что при субклиническом гипотиреозе концентрация витамина А в сыворотке крови в 2 раза ниже, чем при эутиреозе ($P_u < 0,007$).

Таким образом, обнаруженные изменения свидетельствуют о существенной роли витамина А в формировании дистиреоза у подростков с ДНЗ. Выявлено прогрессирующее снижение концентрации витамина А при развитии тиреоидной недостаточности с минимальными значениями при субклиническом гипотиреозе. Установлено, что низкое содержание ретинола сопровождается функциональной напряженностью тиреоидной системы.

ЕФЕКТИ ІНГІБІТОРІВ ГАМК-ТРАНСПОРТЕРІВ GAT1 ТА GAT3 НА ПОЧАТКОВУ ШВИДКІСТЬ НАКОПИЧЕННЯ [³H]ГАМК НЕРВОВИМИ ТЕРМІНАЛЯМИ КОРИ, ГІПОКАМПУ І ТАЛАМУСУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПЕРИНАТАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ

*ПОЗДНЯКОВА Н. Г., ДУДАРЕНКО М. В., ЯЦЕНКО Л. М.,
ГІММЕЛЬРЕЙХ Н. Г., БОРИСОВА Т. О.*

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

Перинатальна гіпоксія призводить до різноманітних неврологічних порушень, у тому числі до розумової відсталості, погіршення навчання та пам'яті, поведінкових відхилень та епілепсії. Відомо, що наслідком глобальної гіпоксії в ранньому постнатальному віці є дисбаланс внутрішньоклітинного і позаклітинного рівнів ГАМК (γ -аміномасляної кислоти), який може бути пов'язаний зі змінами в роботі транспортерів ГАМК - GAT1 і GAT3. Наша робота була присвячена аналізу ефектів високо-селективного блокатора GAT1 – NO711 та субстратного інгібітора GAT3 – β -аланіну на початкову швидкість накопичення [³H]ГАМК нервовими терміналами (синаптосомами), ізольованими з кори, гіпокампу і таламусу головного мозку контрольних щурів та тих, що зазнали умов перинатальної гіпоксії.

Стан гіпоксії та судом у щурів-самців зумовлювали, розміщуючи їх на 10–12-й день після народження у камері із газовою сумішшю (4% O₂ і 96% N₂) протягом 12 хв. Тварин брали в експеримент через 8–9 тижнів після перинатальної гіпоксії та контрольних того ж віку. Препарат синаптосом одержували послідовним диференційним центрифугуванням. Накопичення ГАМК синаптосомами оцінювали з використанням [³H]ГАМК та скловолоконних фільтрів Whatman GF/C.

Ефекти NO-711 (30 мкМ) і β -аланіну (100 мкМ) на накопичення [³H]ГАМК синаптосомами кори були подібними як у контрольних, так і у гіпоксичних щурів. У синаптосомах гіпокампа NO-711 на 84,3% інгібував початкову швидкість накопичення [³H]ГАМК у нормі і на 80,1% – після гіпоксії. У той же час ефект β -аланіну збільшувався після гіпоксії порівняно з контролем. У тварин, що зазнали гіпоксичного впливу, початкова швидкість накопичення [³H]ГАМК під дією β -аланіну знижувалась на 22,1%, в той час як у контрольних – на 14,4%. У синаптосомах таламуса здатність NO-711 до інгібування накопичення [³H]ГАМК знижувалась після гіпоксії, тоді як ефект β -аланіну навпаки зростав. NO-711 інгібував початкову швидкість накопичення [³H]ГАМК на 79,6% у контрольних щурів і на 70,9% у тих,

що зазнали впливу гіпоксії. β -аланін у гіпоксичних щурів спричиняв зниження початкової швидкості накопичення [^3H]ГАМК на 30,2%.

Таким чином, ефективність впливу β -аланіну на накопичення ГАМК збільшується у нервових терміналях гіпокампа і таламуса в результаті перенесеної перинатальної гіпоксії, в той же час ефективність NO-711 у таламусі знижується. Ці результати можуть вказувати на зміни у співвідношенні експресованих активних транспортерів GAT1/GAT3 у плазматичній мембрані нервових терміналей внаслідок перинатальної гіпоксії. Було запропоновано принципову можливість модуляції активності GAT3 екзогенним і природним ендогенним β -аланіном.

ESTIMATION OF PROOXIDANT AND TOXIC EFFECTS OF ASCORBIC ACID IN PER OS AND INTRAMUSCULAR ADMINISTRATION

POPOVA L. D., VASYLYEVA I. M.

*Kharkiv National Medical University, Ukraine;
e-mail: popova_ld@ukr.net*

The necessity of ascorbic acid (AA) to the body is not in doubt, however there are unresolved issues regarding the AA doses that are optimal to bioavailability, effectiveness and side effects. Ascorbate has both anti- and prooxidant effects. The participation of AA in the tocopherol regeneration provides the formation of double system of the antioxidant defense. On the other hand, the AA plays an important role in the production of reactive oxygen species (ROS) by leukocytes, particularly neutrophils. The use of its high doses leads to negative effects, including suppression of pancreatic insular apparatus function, hyperglycemia, glucosuria, hyperoxalaturia etc. The aim of our study was to investigate the influence of per os (p/o) and intramuscular (i/m) AA administration on the activity of inducible NO-synthase (iNOS) and catalase, the content of AA, glucose and uric acid in the blood. Work was carried out on 20 three-month-old guinea pigs (males), bred and kept under standard vivarium conditions. The use of guinea pigs as an object of study is due to the fact that their body, like the human body can not synthesize AA. In this regard, the extrapolation on people of data obtained on guinea pigs is the most correct. The animals of experimental groups were administered AA in a dose of 4 mg/kg of body weight for four days. Intact animals were used as a control. The activity of iNOS was determined by method, based on the photometric determination of the increase of enzymatic reaction product content. Enzymatic reaction was carried out with the addition of EDTA to bind endogenous Ca^{2+} . Catalase activity was determined by spectrophotometric method on the rate of cleavage of hydrogen peroxide in the incubation medium. Content of AA in plasma was investigated by the titration method. Glucose and uric acid were determined by standard methods using standardized sets of reagents «Felicita» (Dnepropetrovsk, Ukraine). Statistical analysis of the results was carried out using the package of practical statistics “Statistica 6.0” using the U-Mann – Whitney test. It was found increased activity of iNOS under the influence of AA ($P < 0.05$). This increase was more significant in i/m administration ($P < 0.05$). Inducible Ca^{2+} -independent NOS is mainly present in macrophages and neutrophils. Cytotoxic effect of NO is due to its ability to interact with superoxide radicals to form more aggressive molecule - peroxynitrite. Precisely iNOS plays more significant role in the formation of NO and ONOO $^-$. The formation of ROS in phagocytes, especially neutrophils, is due to stimulation of the pentose phosphate pathway of glucose oxidation by AA. Indirectly, the activation of the pentose phosphate pathway was confirmed by a decrease of glucose level in the blood serum of guinea pigs after administration of AA. The increased production of ROS such as hydrogen peroxide was confirmed by data on the study of catalase activity. The increased activity of this enzyme was observed ($P < 0.05$). More significant increase of catalase activity was in i/m injection. These results indicate prooxidant effects of AA that are more manifested in i/m administration. The serum uric acid level was decreased both in p/o and i/m AA administration. It is known that uric acid has antioxidant properties. Reducing its contents after administration AA is possibly due to its increased use as an antioxidant and conversion to allantoin. Data concerning

the content of AA in serum show that the method of AA administration in used doses does not affect its bioavailability. The analysis of data obtained testify that used doses of ascorbic acid manifest prooxidant effect, don't have negative influence on pancreatic insular apparatus, demonstrate the same bioavailability in per os and intramuscular administration.

ПОЗАЯДЕРНІ ЕФЕКТИ ДНК-УШКОДЖУВАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ У ЛЕЙКЕМІЧНИХ КЛІТИНАХ

¹ПРИЛУЦЬКА С. В., ¹ГРИНЮК І. І., ¹ФРАНСКЕВИЧ Д. В., ¹ГРЕБІНИК Д. М.,
²ПАСІЧНИК Г. В., ²ДРОБОТ Л. Б., ¹МАТИШЕВСЬКА О. П.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
²Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: psvit@bigmir.net

Механізм протипухлинної дії хіміопрепаратів доксорубіцину (Dox, антибіотик антрациклінового ряду) та цисплатину (cis-Pt, похідне двовалентної платини) полягає в їх здатності інтеркалювати в ДНК, блокувати синтез нуклеїнових кислот, виявляти антимітотичний та антипроліферативний ефекти. Окрім того, ці сполуки здатні спричиняти «позаядерні» ефекти, а саме впливати на структурно-функціональний стан мембран, транспорт іонів, продукування вільних радикалів, функціонування дихального ланцюга мітохондрій, активність протеїнкіназ, що активуються мітогенами та стресовими чинниками (Jnk, Erk та p38 кінази). Підтримання клітиною про-/антиоксидантного балансу та рівноважної концентрації вільного цитозольного Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]$) є однією з важливих умов клітинного гомеостазу, а модифікація цих показників – одним із механізмів контролю таких процесів, як проліферація, затримка росту та клітинна загибель. Метою роботи було оцінити продукування активних форм кисню, показники кальцієвого гомеостазу та активності MAP-кіназ у клітинах лінії L1210 (лімфоїдна лейкемія мишей) за дії Dox та cis-Pt.

Життєздатність клітин оцінювали за допомогою МТТ-тесту. Вміст активних форм кисню та концентрацію вільного цитозольного Ca^{2+} визначали з використанням флуоресцентних зондів 2,7-дихлордигідрофлуоресцеїну діацетату та індо-1 відповідно. Активність MAP-кіназ визначали за допомогою Вестерн-блот аналізу з використанням відповідних антитіл. Внесення Dox або cis-Pt до середовища інкубації лейкемічних клітин у концентраціях, що відповідають IC_{50} (1 та 5 мкг/мл відповідно) призводило до посилення продукування АФК впродовж 1 год. Виявлено також значне зростання $[\text{Ca}^{2+}]$ у цей період – показник зростав у 4,8 та 3,6 раза за дії Dox та cis-Pt відповідно. У порівняльних експериментах із використанням тимоцитів щура як попередників нормальних лімфоцитів, за тих же умов дії цитостатиків показано більш значне, порівняно з зафіксованим у лейкемічних клітинах, посилення продукування АФК. Виявлено тривале підвищення концентрації вільного цитозольного Ca^{2+} у клітинах цього типу за дії як Dox, так і cis-Pt. Ці дані свідчать про цитотоксичний ефект протипухлинних препаратів не лише у лейкемічних, а й у нормальних лімфоїдних клітинах, який виявляється у ранньому порушенні про-/антиоксидантного балансу та кальцієвого гомеостазу.

Результати експериментів з використанням лейкемічних клітин, чутливих (L1210S) та резистентних (L1210R) до дії цисплатину, показали, що резистентність клітин до дії протипухлинного препарату може частково опосередковуватись активацією кінази Jnk. Зроблено припущення, що різна потужність активації p38 у L1210S і L1210R клітинах може супроводжуватись різноскерованими біологічними наслідками: забезпечувати проапоптичний ефект цисплатину в L1210S або протидіяти такому в L1210R клітинах.

Робота виконана за підтримки гранту НАН України «Нові нановуглецеві матеріали для спрямованої дії на онкотрансформовані клітини» (№ д/р 0110U005962).

**ЗВ'ЯЗУВАННЯ МІЧЕНОГО ТІАМІНУ СИНАПТОСОМАМИ
ЯК ПОКАЗНИК ОБМІНУ ТІАМІНУ В НЕРВОВИХ КЛІТИНАХ**

*ПРОТАСОВА З. С., МЕЖИНСЬКА О. О., СТЕПАНЕНКО С. П.,
ЧЕХІВСЬКА Л. І., ПАРХОМЕНКО Ю. М.*

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

На підставі результатів власних досліджень та даних літератури нами було сформульовано робочу гіпотезу відносно молекулярних механізмів, які є відповідальними за високу чутливість нервових клітин до дефіциту тіаміну. В основу гіпотези закладено уявлення про існування в нервових клітинах рухомого пулу тіаміну (РПТ), представленого незв'язаними з ензиматичними протеїнами похідними тіаміну. Циркуляція РПТ проміж пресинаптичною щілиною та внутрішньоклітинним простором спряжена із змінами мембранного потенціалу, реакціями фосфорилування-дефосфорилування тіаміну і його фосфатів. Припускається також взаємодія функціонування РПТ із метаболізмом окремих нейромедіаторів. Однією з ключових ланок РПТ є ізольований нами раніше тіамінзв'язуючий протеїн (ТЗП), локалізація якого в плазматичних мембранах синаптосом (ПМС) була показана раніше. Раніше було також показано схожість кінетичних параметрів взаємодії тіаміну з синаптосомами, їх плазматичними мембранами та ізольованим ТЗП. Це дає підстави вважати, що визначення параметрів зв'язування тіаміну з ізольованими синаптосомами може відображати стан обміну тіаміну, зокрема його рухомого пулу, в нервових клітинах мозку при різних патологіях нервової системи.

Метою даної роботи було дослідити особливості зв'язування міченого тіаміну ($[^{14}\text{C}]$ тіаміну) з синаптосомами, ізольованими із мозку щурів із експериментальними моделями: аліментарного V_1 -авітамінозу, хронічної морфінової залежності (морфін вводився із розрахунку 1 мг на кг маси тіла тварин протягом 4 тижнів) та хронічного алкоголізму (протягом 4-х місяців щури вживали 15% розчин етанолу замість води). Показано, що за умов V_1 -недостатності на фоні зменшення вмісту тіаміну в мозку зростає зв'язування міченого тіаміну синаптосомами та ізольованими ПМС, частково за рахунок зниження специфічності зв'язування (значення K_d для ПМС із мозку V_1 -авітамінозних щурів є майже на порядок вищим ніж для ПМС із нормальних щурів і дорівнює 17,5 мкМ проти 3,0 мкМ в нормі). За умов хронічного введення тваринам морфіну через 4 тижні спостерігається значне зниження вмісту загального тіаміну в мозку (у 2 рази), що майже дорівнює змінам, які відбуваються в мозку V_1 -дефіцитних щурів. На цьому фоні, як правило, спостерігалось підвищення зв'язування міченого тіаміну синаптосомами, ізольованими із мозку таких щурів. У дослідях *in vitro*, проведених з синаптосомами із мозку нормальних щурів, які інкубувались з різними концентраціями морфіну, спостерігалась дозозалежна активація зв'язування міченого тіаміну синаптосомами (уявна K_d дорівнювала 10 мкМ). Підвищення зв'язування тіаміну відповідно контролю спостерігалось і з синаптосомами, ізольованими із мозку щурів з хронічним алкоголізмом. Але на цій моделі, яка розвивалась протягом 4-х місяців, нам не вдалося досягти суттєвого зниження вмісту тіаміну в мозку. У той же час більш вираженіше зниження цього показника спостерігалось в печінці щурів як з хронічним алкоголізмом, так і з морфіновою залежністю. Можна припустити, що за цих патологій відбувається «перекачування» тіаміну із печінки до мозку. Із одержаних даних можна зробити висновок, що морфін як і алкоголь активує обмін тіаміну, зокрема РПТ, у нервових клітинах, що призводить до виснаження пулу тіаміну в мозку при хронічному вживанні вказаних речовин.

ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ЗАСТОСУВАННЯ БЛОКАТОРІВ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

ПУШКАРЬОВ В. М., КОВЗУН О. І., ПУШКАРЬОВ В. В., ТРОНЬКО М. Д.

*ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», Київ;
e-mail: pushkarev.vm@gmail.com*

У сучасній медицині найефективнішими канцеростатичними засобами є агенти та сполуки, дія яких пов'язана з гальмуванням або зупинкою клітинного циклу. До таких належать, в першу чергу, таксани, які діють на мікротрубочки, порушуючи таким чином поділ клітин. Друга група агентів, таких як іонізуюча радіація (ІР) та препарати платини, пошкоджує ДНК пухлинної клітини, що також супроводжується зупинкою клітинного циклу. Останнім часом у медичну практику почали вводити сполуки, що вибірково пригнічують окремі ензими, які беруть участь у регуляції мітозу. До них належить, зокрема інгібітор циклінзалежних кіназ – росковітин.

Вивчали ефекти паклітакселу (Рtx), γ -опромінення, росковітину та їх комбінацій на апоптозні процеси в клітинах та на ріст ксенотрансплантованих пухлин анапластичного раку щитоподібної залози (АТС). Показано, що ІР та Рtx конкурентно впливають в пухлинних клітинах на фосфорилування основного регулятора клітинного циклу, пухлинного супресора р53, інших важливих регуляторів циклу та експресію проапоптозного протеїну Вах. У той же час, ефект комбінованої дії ІР та Рtx щодо активації каспаз вірогідно вище від ефектів кожного з цих агентів, зокрема. Дослідження дії Рtx, ІР та їх комбінації на виживання клітин АТС та ріст ксенотрансплантованих пухлин, що походять з цих клітин, показало, що ІР впливає на життєздатність пухлинних клітин не суттєво, а найефективнішими виявились низькі (0,5–2 Гр) дози іонізуючої радіації. У дослідах *in vivo* опромінення також не зупинило ріст пухлин – спостерігалось лише гальмування їх зростання. Рtx виявився значно ефективнішим, а за комбінованої дії ІР та Рtx розмір пухлин зменшувався до 0–0,3% від контролю.

Дослідження комбінованої дії Рtx та росковітину на апоптозні механізми виявило, що росковітин активує каспази та розщеплення одного з субстратів каспази-3 – полі(ADP-рибозо)-полімерази (ПАРП), але послаблює індуковані паклітакселем активацію каспази-9, розщеплення ПАРП та, особливо, активацію каспази-8. З іншого боку, росковітин значно знижує рівень антиапоптичного протеїну XIAP, який зростає за дії паклітакселу, що напевно є головною причиною канцеростатичних властивостей росковітину.

Вивчення виживаності клітин показало, що росковітин, після 24 год інкубації, посилював цитотоксичність Рtx щодо клітин АТС при всіх досліджених концентраціях. Після 48 год інкубації росковітин підвищував цитотоксичність Рtx тільки при низьких (2,5 нмоль/л) концентраціях і не впливав або навіть гальмував апоптоз при вищих концентраціях Рtx. Пригнічення цитотоксичності Рtx росковітином в останньому випадку можливо, відображає зниження активності каспаз при спільній дії Рtx та росковітину.

Таким чином, комбіноване застосування Рtx у концентраціях, що спричиняють апоптоз (10–25 нмоль/л) та низьких фракційних доз (0,5–5 Гр) ІР, а також росковітину та низьких (1–5 нмоль/л) концентрацій Рtx є перспективною стратегією для подальших доклінічних досліджень, що мають за мету розробку нових та інтенсифікацію традиційних терапевтичних підходів для лікування недиференційованого та анапластичного раку щитовидної залози.

ANALYSIS OF KINASE ACTIVITY OF RECOMBINANT CKBB UNDER VARIOUS STRESS FACTORS¹RAKHMETOV A., ²SAN PIL LI, ¹OSTAPCHENKO L., ²CHAE HO ZOON¹*Education and Science Center Institute of Biology Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;*²*Chonnam National University, Gwangju, South Korea;
e-mail: anar.rakhmetov@gmail.com*

Brain-type creatine kinase (CKBB) is a crucial enzyme for energy production in the cell. It catalyzes the reversible reaction of creatine/phosphocreatine formation. This phosphocreatine pull can be used for generation of ATP during the period of intensive energy consumption. Importance of CKBB has been shown in various studies related to an early development and progressing of neurodegenerative diseases. Examination of the affected brain regions in patients affected by Alzheimer's disease (AD), Lewy body dementia, Huntington's disease have indicated on reduced levels and decreased activity of CKBB.

In our previous study we constructed and expressed recombinant brain type creatine kinase. The results have demonstrated distinct expression levels of the protein in two cell lines HeLa and A549. Although, HeLa cells had an intrinsic Prx signal, we have detected a second band on blotted membrane. The molecular mass of CKBB that was determined by SDS-PAGE corresponds to 43 kDa. Where, the total molecular mass of CKBB homodimer is 86 kDa.

To test whether purified creatine kinase could retain its enzymatic activity under various stresses we determined activity of CKBB in the forward direction of phosphocreatine formation according to the pH-colorimetry method. The enzymatic activity was monitored by the absorption at the wavelength of 597 nm. Assay mixture contained 24 mM creatine, 4 mM ATP, 5 mM Mg²⁺, and 0.01% thymol blue, in a 5 mM Glycine-NaOH buffer with pH 9.0. Total reaction volume was adjusted to 600 µl in 1 ml cuvette.

Thermal inactivation was carried out by incubating the purified enzyme diluted in Glycine-NaOH buffer at given temperatures for 10 min. The final protein concentrations of the brain creatine kinase was 30 nM. After the heat treatment, the samples were cooled immediately on ice, and then the residual activity was measured at 25 °C. Although, the two cytosolic isoform of BB-CK and MM-CK share up to 82% amino acid sequence identity the thermostability of CKBB is dramatically lower than that of CKMM. Treatment of CKBB with mild temperature of 37 °C showed nearly a 36% reduction of the enzyme activity. 57% of CKBB enzyme was inactivated after 10 min of heat treatment at 40 °C, and 85% of its activity was lost under 42 °C treatment. These data were constituent with the previously characterized thermostability of rabbit CKBB.

It has been suggested the substantial inactivation of human CKBB by oxidation of reactive cysteins at excessive production of ROS. To test this possibility, we incubated 30 nM of recombinant CKBB with given concentrations of H₂O₂ for 10 min, the ambient temperature was adjusted to 25 °C. H₂O₂ was added at final concentrations of 0.25, 0.5, and 1 mM to creatine kinase samples diluted in Glycine-NaOH (pH 9.0) buffer. Aliquots (60 µl) were removed at specific time intervals to determine CK activity. The remaining kinase activity of CKBB was calculated by fitting the initial linear range of the reaction progress curve. Inactivation of creatine kinase by H₂O₂ occurred in a concentration dependant manner. The creatine kinase activities were decreased by 27, 59 and 72% after incubating with above indicated hydrogen peroxide concentrations. These observations were consistent with those in previous studies.

Hence, our results clearly show that the cytosolic CKBB is extremely sensitive to oxidative stress and thermal induced inactivation. What makes it an easy target for multiple reactive oxygen species generated under conditions of neurodegenerative disorders.

СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПЕПТИДЫ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО СЕКРЕТА КАК КРИТЕРИЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ АЛЬВЕОЛОКАПИЛЛЯРНОЙ МЕМБРАНЫ

РЕШЕТНЯК Н. А., ЯКУБЕНКО Е. Д., ХРИПАЧЕНКО И. А.

*Донецкий национальный медицинский университет
имени Максима Горького, Украина*

Повреждающее действие вентиляции легких под положительным давлением зависит от состояния микроциркуляторного русла и легочных тканей до инициации искусственной вентиляции легких (ИВЛ). И чем дольше проводится ИВЛ, тем больше вероятность развития вентилятор-ассоциированного повреждения легких. Считается, что пусковым механизмом этого повреждения служит нарушение проницаемости альвеолокапиллярной мембраны. В настоящем исследовании, проницаемость альвеолокапиллярной мембраны оценивали путем определения содержания общего протеина и светопоглощения пула среднемолекулярных пептидов в бронхоальвеолярном секрете при помощи процедуры небронхоскопического бронхоальвеолярного лаважа.

Процедура бронхоальвеолярного лаважа проведена у 29 пациентов. В первой группе было 14 больных, с показаниями для инициации механической вентиляции легких. Во второй группе, которая служила контролем, были относительно здоровые, некурящие пациенты, которые подвергались плановому хирургическому вмешательству – уролитотомии. Критериями исключения для контрольной группы, служили наличие сопутствующих заболеваний легких и верхних дыхательных путей. Содержание протеина в полученной при бронхоальвеолярном лаваже жидкости определяли по Lowry. Содержание среднемолекулярных пептидов определяли по методике Габриэляна. Степень разведения бронхоальвеолярного секрета (БАС) определяли при помощи анализа концентраций мочевины в сыворотке крови и в жидкости бронхоальвеолярного лаважа. Концентрацию мочевины определяли урезным методом. Сравнимые группы больных сопоставимы по полу и возрасту. Максимальное количество больных в контрольной группе приходится на возраст от 60 до 70 лет, так же, как и в группе сравнения. Максимальный возраст больных группы сравнения не отличался от возраста контрольной группы, в то время как в группе сравнения минимальный возраст больных был 18 лет.

Проведенный корреляционный анализ показал наличие положительной связи между длительностью механической вентиляции легких и содержанием среднемолекулярных пептидов в бронхоальвеолярном секрете. Так, наибольший коэффициент корреляции Спирмана для молекул средней массы (МСМ) при длине волны 238 нм составил 0,56 ($P < 0,05$). Другими словами, чем больше продолжительность механической вентиляции легких, тем больше содержание в бронхоальвеолярном секрете среднемолекулярных пептидов. Корреляция между длительностью ИВЛ и показателем МСМ при 280 нм отсутствует, в то время как таковая (коэффициент Спирмана 0,46), причем положительная корреляция, имеется с исходом заболевания. Другими словами, чем выше содержание в БАС МСМ при 280 нм, тем выше вероятность летального исхода.

Больные, нуждающиеся в ИВЛ, изначально еще до инициации ИВЛ имеют нарушение проницаемости альвеолокапиллярной мембраны. Показатели протеина и среднемолекулярных пептидов в БАС можно использовать в качестве критерия проницаемости альвеолокапиллярной мембраны. Контроль проницаемости альвеолокапиллярной мембраны может служить не только своевременной диагностикой острого легочного повреждения, но и инструментом для мониторинга больных, нуждающихся в длительной механической вентиляции легких.

МИКРОЭЛЕМЕНТЫ ЭЯКУЛЯТА ПРИ ОСТРОМ ОРХОЭПИДИДИМИТЕ

¹РОССИХИН В. В., ²ЯКОВЕНКО М. Г.

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина;

²Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;

e-mail: rossikhin@rambler.ru

Цель исследования – изучение микроэлементов эякулята у пациентов с острым орхоэпидидимитом.

Микроэлементный состав спермы определяли у 10 здоровых мужчин и у 28 больных острым орхоэпидидимитом в возрасте от 20 до 40 лет. У всех обследованных эякулят получен при мастурбации: у больных острым орхоэпидидимитом – на 8–10-й день после операции, у здоровых мужчин – на 3–4-й день после полового воздержания. В эякуляте изучался уровень Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, Mn^{2+} .

Проведенный анализ показал, что в эякуляте больных острым орхоэпидидимитом отмечается заметное снижение количества кальция ($P < 0,1$). Известно, что подвижность сперматозоида обусловлена содержанием в его хвосте особого протеина спермиозина, в котором накапливается энергия фосфатной кислоты, присоединившейся к АТФ при дыхании или гликолизе. При этом активность спермиозина обусловлена ионами кальция. Следовательно, ионы кальция облегчают получение энергии сократительным веществом сперматозоида. Снижение количества кальция в эякуляте больных острым орхоэпидидимитом является одной из причин увеличения количества малоподвижных и неподвижных сперматозоидов. С другой стороны, известно, что накопление кальция в секрете предстательной железы происходит с помощью лимонной кислоты, а количество последней служит объективным тестом функциональной активности предстательной железы и косвенно отражает состояние андрогенной функции яичек, т.е. по количеству кальция в эякуляте можно судить о функциональном состоянии предстательной железы. Другим микроэлементом, существенно зависящим от андрогенной насыщенности организма, является цинк. Из всех клеток человеческого организма больше всего цинка содержится в сперматозоидах. Полученные нами результаты показали, что содержание цинка в эякуляте больных острым орхоэпидидимитом более чем в 5 раз меньше, чем в эякуляте здоровых мужчин ($P < 0,1$). Это позволяет сделать вывод о снижении андрогенной активности и резком нарушении сперматогенеза при остром орхоэпидидимите. Сравнение содержания магния, калия, натрия в эякуляте здоровых мужчин и больных острым орхоэпидидимитом выявило у последних значительное его уменьшение ($P < 0,1$). Вместе с тем была отмечена некоторая тенденция к увеличению концентрации железа ($P > 5$) и меди ($P < 1$) в эякуляте больных. Выявить марганец в эякуляте мужчин обеих групп методом атомной абсорбции не удалось, достоверно известно лишь, что уровень этого микроэлемента в эякуляте менее 0,015 мг/100 мл.

Таким образом, при остром орхоэпидидимите в микроэлементном составе эякулята происходят значительные изменения, и содержание кальция и цинка в эякуляте может служить косвенным тестом его оплодотворяющей способности.

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES IN THE LIVER OF RATS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HEPATITIS WITH IMBALANCE OF NITRIC OXIDE

RUDENKO A. I., *KLENINA I. A.*, MAKARCHUK V. A.,
OSHMYANSKA N. Y., GALINSKY O. O.

*SI «Institute of Gastroenterolog, Nantional Academy of Medical of Sciences of Ukraine», Dnepropetrovsk;
e-mail: inklenina@yandex.ru*

The study was undertaken to examine the morphological and biochemical changes in the rat liver and the state of physiological activity of rats under conditions of experimental hepatitis with imbalance of nitric oxide.

The study was conducted on 24 white male laboratory rats which was divided into control ($n = 6$) and four study groups: I ($n = 4$) - administration of CCl_4 once a day for 4 days, sacrificed on day 7; II ($n = 4$) - a single injection of CCl_4 , sacrificed on day 7; III ($n = 6$) - intraperitoneal administration of nitro-L-arginine (L-NNA) for 5 days with the addition of CCl_4 (one dose) on the day 5, sacrificed on day 7; IV ($n = 4$) - intraperitoneal administration of 1% sodium nitroprusside (NaNP) for 5 days with the addition of CCl_4 (one dose) on the day 5, sacrificed on day 7. Qualitative and quantitative analysis of individual typological and psycho-emotional behavior of animals was carried out by testing animals in the «open field» and elevated plus maze. The development of hepatitis was confirmed morphologically. Computer morphometry was performed using ImageJ 1.45S. Activity of arginase (AP) and the NOx content was determined in the liver homogenate.

After 7 days of CCl_4 administration (once a day for 4 days), in the liver of rats signs of acute hepatitis were shown, the structural basis of which was fatty degeneration occupying 40-80% of the entire biopsy area and in 100% cases locating around the portal tracts, with the most significant damage in the I-II zones of acini. Morphological changes in the first group were accompanied by increased activity of AR in rat liver tissue by 50.0% ($P < 0.01$) therewith contents of NOx metabolites was reduced by 20.0% ($P < 0.01$) compared to the control. There was also a decrease in the frequency of visits to the external squares by 79.4 % and internal by 78.3%, compared to the control group ($P < 0.001$). 7 days after a single administration of CCl_4 (II group) the similar morphological changes were observed but, in some cases, with a lower intensity. Development of experimental hepatitis under conditions of nitric oxide deficiency in 100% of cases was characterized by an evident ectasia of sinusoids. Destruction of hepatocytes by fatty degeneration was more localized. In the group III AP activity was inhibited by 22.1% ($P < 0.05$) and was accompanied with reduction of NOx by 21.5%, compared to the control group. The development of acute hepatitis under conditions of nitric oxide excess in 75.0% of the cases was followed by a less expanded but more severe steatosis with local foci of necrosis. AP activity tended to increase by 9.9% compared to the control, whereas NOx tended to decrease by 16.1%, which is almost similar to the biochemical parameters in group I. Animals receiving CCl_4 against the background of NO excess showed suppression of motor and orienting-investigative activity.

All aforecited findings suggest that the model of hepatitis was recreated by one-time CCl_4 administration against the background of NO excess, which was confirmed by characteristic morphological changes and compensatory response in the form of increased arginase activity and decrease in the amount of nitric oxide metabolites in the liver homogenate. One-time administration of CCl_4 under the conditions of NO excess led to the disruption of both locomotor activity and orienting-investigative activity in the experimental animals.

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ УЧАСТІ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ЕЛАСТАЗИ ТА ОСТЕОПОНТИНУ В ПАТОГЕНЕЗІ ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ В ПОСІДНАННІ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

САМОХІНА Л. М., КАЛАШНИК Д. М.

*ДУ «Національний інститут терапії ім. Л. Т. Малої НАМН України», Харків;
e-mail: lub.samokhina@yandex.ua*

З віком знижуються функціональні можливості серцево-судинної системи, що супроводжується розвитком ішемічної хвороби серця (ІХС). Серед причин цього явища відзначають зниження еластичних властивостей артерій. Потовщення базальної мембрани капілярів, зменшення діаметра пор, зниження активності піноцитозу ендотеліоцитів призводять до пригнічення інтенсивності транскapілярного обміну, порушення кисневого постачання тканин і виникнення гіпоксії при старінні. В основі розвитку вказаних процесів лежить збільшення вмісту малоеластичної сполучної тканини в серці і судинах. Саме цей характер тканинних змін може бути обумовлений зниженням активності ендотеліальної еластази (ЕЕл). Відомо також, що з віком збільшується вміст остеопонтину (ОП) – одного з протеїнів позаклітинного матриксу, який бере участь у його ремоделюванні. Розвиток ендотеліальної дисфункції судин малого і великого кіл кровообігу відбувається і при хронічному обструктивному захворюванні легень (ХОЗЛ). Це супроводжується структурними змінами в стінці артерій, що відбивається на їх властивостях. Мета дослідження – вивчити характер участі ендотеліальної еластази та остеопонтину в патогенезі ХОЗЛ на фоні ІХС у людей похилого віку.

Обстежено 43 хворих, із них з ХОЗЛ+ІХС ($n = 19$), ХОЗЛ ($n = 18$), ІХС ($n = 6$). Середній вік $56,0 \pm 7,2$ рр. Контрольна група – 25 здорових осіб. Діагноз ХОЗЛ встановлювали відповідно з критеріями GOLD (2011). Виключали хворих на ХОЗЛ у фазі загострення та з тяжкою серцевою патологією. ІХС діагностували згідно рекомендацій Українського товариства кардіологів. Досліджували до лікування в сироватці крові активність ЕЕл високочутливим (10^{-9} – 10^{-10} г) ензиматичним методом (Патент України № 45068), а в плазмі крові, яку відбирали з цитратом натрію, вміст ОП із використанням набору реагентів «Osteopontin (human), ELISA kit» виробництва Enzo Life Science (Швейцарія). Вимірювали абсорбцію за допомогою напівавтоматичного імуноензиматичного мікропланшетного аналізатора ImmunoChem-2010 фірми High technology INC (США). Статистичну обробку проводили за методом Стьюдента-Фішера з використанням програмного забезпечення Excel. Виявлено зниження активності ЕЕл ($P < 0,001$) порівняно з контролем у всіх групах хворих. Відзначено також нижчий рівень ЕЕл при ХОЗЛ. Одноманітність, тобто неспецифічність виявлених змін активності ЕЕл може свідчити про їх віковий характер. А більша виразність її зниження за ХОЗЛ вказує на тяжкість перебігу захворювання. Низька активність ЕЕл може бути пов'язана зі змінами структурної будови судин, зменшенням еластичності волокон, які забезпечують протидію розтягнутості, внаслідок судини стають більш розтягнутими, що призводить до змін об'єму під впливом коливання тиску. Вміст ОП у обстежених хворих високий, більш 38 нг/мл, що може бути обумовлено похилим віком. При ХОЗЛ вміст ОП більший порівняно з ІХС, ХОЗЛ+ІХС, хоча ці відмінності мають характер тенденції, можна припустити їх зв'язок із розвитком запальної реакції, фіброзу. Високий вміст ОП у разі ІХС може бути обумовлений впливом куріння і пов'язаний зі збільшенням його експресії у позаклітинному матриксі.

Таким чином, наявність ХОЗЛ та/або ІХС характеризується зниженням активності ЕЕл та зростанням вмісту ОП, що пов'язано з похилим віком хворих, при цьому зміни мають більш виражений характер за ХОЗЛ і відсутній вплив змін досліджених показників на обтяження спільного перебігу ХОЗЛ та ІХС.

ПРЕПАРАТИ АМІКСИН ТА АГМАТИН ВПЛИВАЮТЬ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ НІКОТИНОВОГО АЦЕТИЛХОЛІНОВОГО РЕЦЕПТОРА МІТОХОНДРІЙ

СЕРЕДНИЦЬКА К. Р., ГЕРГАЛОВА Г. Л., ЛИХМУС О. Ю., СКОК М. В.

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

Нікотинові ацетилхолінові рецептори (nAHR) належать до суперродини лігандзалежних іонних каналів, забезпечують швидку синаптичну передачу, регулюють активність інших рецепторів та вивільнення медіаторів у нервовій системі. У незбудливих клітинах вони регулюють базові життєві функції, такі як проліферація і виживання, в тому числі, пов'язані з діяльністю мітохондрій. Останні дослідження показали, що nAHR нейрональних субтипів експресовані не тільки на плазматичній мембрані клітин, а й на зовнішній мембрані мітохондрій, де їх сигналювання має антиапоптотичні наслідки. При цьому антиапоптотичну дію спричинює зв'язування як агоністів, так і антагоністів nAHR, а також nAHR-специфічних антитіл. Препарати аміксин та агматин, які широко використовуються у сучасній медицині, за даними літератури, є лігандами nAHR. Аміксин (тилорон), синтетична речовина, що має імуномодельючу та противірусну дію, є агоністом $\alpha 7$ субтипу nAHR. Агматин (4-амінобутил-гуанідин), продукт декарбоксилування аргініну, який використовується для послаблення хронічного болю, як антидепресант, а також як біологічна добавка для спортсменів, є слабким канальним блокаторм різних субтипів nAHR. Метою даної роботи було дослідити дію аміксину та агматину на функціонування мітохондріальних nAHR.

Експерименти проводили на фракції ізольованих мітохондрій мозку та печінки мишей лінії C57BL/6J. До препарату ізольованих мітохондрій додавали апоптогенний чинник Ca^{2+} у різних концентраціях за попередньої присутності у середовищі аміксину чи агматину. Як позитивний контроль використовували селективний агоніст $\alpha 7$ nAHR PNU 282987. Подальший сендвіч-імуноензиматичний аналіз супернатанту мітохондрій показав, що як аміксин, так і агматин дозозалежно знижували кількість цитохрому *c*, вивільненого з мітохондрій при додаванні Ca^{2+} , однак значно слабше, ніж це робив PNU 282987. Водночас, присутність у середовищі аміксину чи агматину зменшувала вплив PNU 282987 на вивільнення цитохрому *c* з міжмембранного простору мітохондрій.

Отримані дані свідчать про те, що медична дія аміксину та агматину може, поряд з іншими ефектами, включати вплив на функціонування мітохондрій, зокрема, на розвиток апоптозу за мітохондріальним шляхом.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ДОКСОРУБІЦИНУ НА ЛІПІДНИЙ СКЛАД ТКАНИН НИРОК ТА ГОЛОВНОГО МОЗКУ

СИТНИК І. М.

*Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;
e-mail: innasytnik10@gmail.com*

Антибіотики антрациклінового ряду широко застосовуються в лікуванні онкологічних та гематологічних захворювань. Так, доксорубіцин є одним з найефективніших протипухлинних антибіотиків. Механізми протипухлинної дії доксорубіцину пов'язані з індукцією апоптотичної загибелі пухлинних клітин та інгібуванням у них проліферативних процесів внаслідок деградації ДНК. Відомо, що антрациклінові антибіотики зумовлюють серйозні побічні ефекти, що супроводжуються ураженням різних органів. Так, найбільш вираженою є кардіотоксична дія доксорубіцину (ДР),

вивченню якої присвячено численні дослідження. Але недостатньо вивчено вплив ДР на інші органи. Метою дослідження було вивчити вплив ДР на спектр жирних кислот тканин нирок та головного мозку експериментальних тварин.

Досліди проведено на 28 білих щурах лінії Вістар масою 180–300 г. Моделювання проводили введенням доксорубіцину щотижнево внутрішньом'язово у дозі 5 мг/кг маси протягом 5 тижнів. Визначення жирнокислотного спектра в тканинах нирок та головному мозку дослідних щурів проводили методом газової хроматографії.

У ході досліджень, виявилися наступні зміни: в ліпідному складі нирок спостерігалось зростання частки арахідонової кислоти на 25,4%, у зв'язку з цим достовірно зростала сума поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) на 18% – лінолевої ($C_{18:2}$), ліноленової ($C_{18:3}$), арахідонової ($C_{20:4}$) та незначно підвищувалася сума ненасичених жирних кислот (ННЖК), переважно за рахунок збільшення частки арахідонової кислоти. При цьому зменшувалася частка олеїнової кислоти, ймовірно за рахунок активації пероксидного окислення ліпідів.

Таким чином, внаслідок впливу ДР на спектри жирних кислот у тканинах нирок щурів, спостерігається збільшення частки суми ПНЖК та ННЖК, що вказує на наявність патології запально-деструктивного характеру. Натомість, відсутність змін у співвідношенні насичених жирних кислот, а також ННЖК та ПНЖК, в тканинах головного мозку щурів при введенні ДР, підтверджують фармакокінетичні дані про захисну дію гематоенцефалічного бар'єра.

МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

СІРЧАК Є. С., ФАБРИ З. Й., СІКСАЙ Л. Т.

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна;

e-mail: szircsak_heni@bigmir.net

Мета роботи – оцінити ефективність використання неінвазивних методів діагностики стадій фіброзу печінки за допомогою спеціальних тестів (СТ) у хворих на хронічні ураження печінки.

Під нашим спостереженням знаходилось 65 хворих на цироз печінки (ЦП), які лікувалися в ЗОКЛ ім. А. Новака м.Ужгорода. Серед 52 обстежених хворих чоловіків було 34 (65%), віком $49,6 \pm 4,2$ років, жінок було – 18 (35%), віком $45,6 \pm 5,5$ років. Контрольну групу склало 10 фактично здорових осіб.

Діагноз ЦП було поставлено з урахуванням скарг, анамнестичних, лабораторно-інструментальних методів дослідження. Для визначення ступеня ураження печінки використовували СТ: $Forns = 7,811 - 3,131 \times \ln(\text{тромбоцити}) + 0,781 \times \ln(\text{ГГТП}) + 3,467 \times \ln(\text{вік}) - 0,014 \times (\text{холестерин, мг/дл})/0,026$; значення менше 4,2 відповідає відсутності фіброзу з вірогідністю до 96%; $FibroIndex = 1,738 - 0,0064 \times \text{тромбоцити} (\times 10^3/\text{мм}^3) + 0,005 \times \text{АСТ (Од/л)} + 0,463 \times \gamma\text{-глобулін (г/дл)}$; якщо значення менше 1,25, то вірогідність відсутності фіброзу близько 87%, якщо значення більше 2,25, то вірогідність фіброзу близько 90%; $FIB-4 (\text{Fibrosis 4 Score}) = \text{вік (років)} \times \text{АСТ}/(\text{тромбоцити} (10^9/\text{л}) \times \sqrt{\text{АЛТ}})$; якщо значення менше 1,45, то вірогідність наявності фіброзу мала (біля 90%), якщо значення більше 3,25, то вірогідність наявності фіброзу велика (біля 90%); $APRI (\text{AST-to-Platelet Ratio Index}) = \text{АСТ} \times 100/((\text{верхня межа норми АСТ}) \times \text{тромбоцити} (10^9/\text{л}))$; якщо значення більше 1,0, то вірогідність наявності фіброзу велика, якщо менше 0,5 – то вірогідність наявності фіброзу мала; $MDA (\text{multivariate discriminant analysis}) = [\text{альбумін (г/л)} \times 0,3 + \text{тромбоцити} (10^9/\text{л}) \times 0,05] - [\text{ЛФ (Од/л)} \times 0,014 + (\text{АСТ}/\text{АЛТ}) \times 6 + 14]$; вірогідність наявності ЦП висока (біля 90%), якщо значення менше 0, якщо значення більше 0, то велика вірогідність відсутності ЦП (біля 90%); $GUCI (\text{Göteborg University Cirrhosis Index}) = \text{АСТ}/(\text{верхня межа норми АСТ}) \times (\text{протромбіновий час}) \times 100/\text{тромбоцити} (10^9/\text{л})$; якщо значення менше 1, вірогідність наявності цирозу мала (близько 20%); $FPI (\text{Fibrosis probability index}) = \exp(\log\text{odds})/(1 + \exp(\log\text{odds}))$; якщо індекс FPI менше 0,2, вірогідність значного фіброзу мала, якщо більше 0,8 – велика.

Хворим по спеціально розробленій комп'ютерній програмі проводили розрахунки по тестам для визначення ступеня ураження печінки. У всіх випадках за використання СТ для визначення поширеності патологічних змін у печінці, отримано результати, які свідчать про ЦП. Під час характеристики окремих тестів виявили наступні результати: Forns ($5,21 \pm 2,0$), FIB-4 ($4,02 \pm 1,7$), Fibroindex ($3,19 \pm 0,96$), APRI ($2,02 \pm 0,66$), MDA ($-29,7 \pm -12,4$), FPI ($1,39 \pm 0,74$) та GUCI ($7,03 \pm 0,98$). Отже, отримані дані характеризують знижену функціональну спроможність печінки, а саме, відповідають ЦП.

Комп'ютерна система із визначенням інтегрованих показників спеціальних математичних тестів дає змогу з точністю оцінити стадію фіброзу/цирозу. Біохімічні маркери печінкового фіброзу являються альтернативою біопсії у зв'язку з їх неінвазивністю, доступністю і точністю у хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки.

Результати наших досліджень дозволяють робити висновок про те, що альтернативним методом неінвазивної діагностики хворих на ЦП може бути комп'ютерна система оцінки стадій фіброзу із використанням спеціально розроблених математичних тестів на основі біохімічних показників сироватки крові.

ВМІСТ ГІДРОГЕНСУЛЬФІДУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ З АД'ЮВАНТНИМ АРТРИТОМ

СТАНІСЛАВЧУК М. А., ЗАІЧКО К. О., СТРУТИНСЬКА О. Б., ЗАІЧКО Н. В.

*Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail: nzaichko@mail.ru*

Ревматоїдний артрит асоціюється з високим ризиком захворюваності та смертності від хвороб серцево-судинної системи. За останні роки накопичились численні дані про роль сигнальної молекули гідрогенсульфіду (H_2S) в регуляції судинного тонуусу, скоротливості міокарду, нейротрансмісії, процесів запалення та апоптозу, цитопротекції. Однак, роль H_2S у патогенезі ревматоїдного артриту та асоційованої з ним серцево-судинної патології залишається невизначеною. Метою роботи було вивчити вміст H_2S та активність ферментів обміну H_2S у міокарді щурів із ад'ювантним артритом (АА).

Досліди проведені на 40 білих нелінійних щурах-самцях масою 200–240 г, які перебували в стандартних умовах з 12-годинним режимом день/ніч, воду і збалансований раціон отримували ad libitum. Ад'ювантний артрит моделювали у 20 щурів введенням під підошвенний апоневроз задньої лапи 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда (Sigma, США). Тварин виводили з експерименту на 14-ту та 21-у добу. У міокарді визначали вміст H_2S за методом Wiliński B.(2011), активність цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1), цистеїнаміно-трансферази (ЦАТ, КФ 2.6.1.3) – за швидкістю утворення сульфід-аніону (Пат.України № 21683), активність тіоредоксинредуктази (КФ 1.8.1.9) за швидкістю NADPH-залежного відновлення 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоату). Дослідження виконано згідно загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001; Страсбург, 1986). Активність запального процесу оцінювали за вмістом С-реактивного протеїну в крові (ELISA, DRG).

Встановлено, що розвиток системного запального процесу при АА супроводжувався зниженням вмісту H_2S та пригніченням його продукції в міокарді. Так, у інтактних щурів вміст H_2S в міокарді становив $7,46 \pm 0,31$ мкг/г тканини, активність H_2S -синтезуючих ферментів ЦГЛ та ЦАТ складала $0,25 \pm 0,01$ і $0,76 \pm 0,05$ нмоль H_2S /хв·мг протеїну, активність тіоредоксинредуктази (ферменту, залученого у депонування H_2S) – $4,42 \pm 0,28$ нмоль DTNB/хв·мг протеїну. На піку активності АА (на 14-ту добу) реєструвалось достовірне зниження вмісту H_2S у міокарді, зниження активності ЦГЛ та тіоредоксинредуктази, в той час як активність ЦАТ практично не змінювалась. На 21-у добу АА реєструвалась слабка тенденція до відновлення вмісту H_2S , активності ЦГЛ та тіоредоксинредуктази в міокарді, але показники залишались зниженими на 40-48% відносно інтактних тварин. Вміст H_2S та активність ЦГЛ у міокарді достовірно обернено корелювали з вмістом СРП ($r = -0,48$ та $-0,43$, $P < 0,05$).

Таким чином, порушення обміну H_2S у міокарді може бути одним із патернів формування серцево-судинної патології при ревматоїдному артриті. Встановлення молекулярних механізмів впливу системного запального процесу при ревматоїдному артриті на обмін H_2S в серці та судинах є перспективним напрямком подальших досліджень.

ВПЛИВ 5-ФТОРУРАЦИЛУ *IN VIVO* НА АКТИВНІСТЬ ТИМІДИНФОСФОРИЛАЗИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

¹СТАШКЕВИЧ М. А., ²ХОМУТОВ Є. В., ²ЗІНКОВИЧ І. І.

¹Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;

²Донецький національний медичний університет

імені Максима Горького, Україна;

e-mail: matviyenko.maryna@gmail.com

Тимідинфосфорилаза (ТФ) – ключовий ензим метаболізму 5-фторурацилу (5-ФУ), який каталізує перший етап трансформації цього препарату в активні метаболіти. Було показано, що експресія ТФ у клітинних лініях раку кишечника знижується при введенні різних хіміотерапевтичних агентів (цисплатину, паклітакселю та ін.) (Miyazaki K., 2006). Метою даного дослідження було оцінити вплив введення самого 5-ФУ на рівень ТФ в печінці щурів.

Для визначення активності ТФ використовували гомогенати печінки 20 щурів-самців. Печінку виділяли через 1, 3 і 6 год після болюсного введення 5-ФУ (в терапевтичній дозі 15 мг/кг, в/о). Контрольна група не отримувала 5-ФУ. Активність ензиму визначали за накопиченням його продукту тиміну після інкубації гомогенатів печінки з реакційною сумішшю, що містила субстрат ТФ – тимідин. Кількість тиміну, що утворився в процесі реакції визначали методом ВЕРХ з УФ-детектором.

В усіх часових групах реєстрували зниження середньої активності ТФ у порівнянні з контрольною, в якій цей показник дорівнював $1,36 \pm 0,07$ нМ/хв·мг. У групі через 1 год після введення препарату активність ензиму була на рівні $1,10 \pm 0,47$ нМ/хв·мг, проте статистично не відрізнялася від контрольної групи. Однак вже через 3 год середня активність ($0,76 \pm 0,33$ нМ/хв·мг) ензиму була в 1,8 раза нижче за контроль (різниця достовірна при $P = 0,01$ за коефіцієнтом Манна–Уїтні). Через 6 год після введення 5-ФУ активність ТФ ($0,92 \pm 0,14$ нМ/хв·мг) залишалась достовірно (при $P = 0,01$) нижчою порівняно з контрольною групою. Отримані дані свідчать про поступове зниження активності ТФ *in vivo* під впливом 5-ФУ. Це може бути результатом пригнічення експресії ТФ завдяки цитостатичній дії хіміопрепарату. Оскільки ТФ частково забезпечує синтез активних метаболітів 5-ФУ, такий ефект може впливати на їх рівень в клітині, що слід враховувати при створенні схем терапії 5-ФУ.

Однократне болюсне введення 5-ФУ щурам призводить до зниження активності ТФ у печінці вже через 3 год; цей ефект зберігається, принаймні, до 6 год після введення препарату.

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБІ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ ПРЕПАРАТОМ «ЛІПІН»

СУХОМЛИН Т. А., НЕТЮХАЙЛО Л. Г.

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава;

e-mail: sukhomlynta@mail.ru

Опікова хвороба призводить до виникнення патологічних змін у легеневій тканині, що робить питання ранньої діагностики та профілактики ушкоджень легень актуальною проблемою сучасної

медицини. Метою дослідження було вивчення впливу препарату «Ліпін» на антиоксидантну систему в легенях щурів при експериментальній опіковій хворобі в динаміці.

Експерименти виконано на 112 білих щурах-самцях, вагою 180–250 г. Для моделювання ЕОХ задню кінцівку щурів занурювали у воду при 75 °С протягом 7 сек. Препарат «Ліпін» вводили в дозі 50 мг/кг (в/о) відразу після моделювання опікової хвороби. У гомогенаті легеневої тканини визначали активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази.

За дослідження ензиматичної ланки антиоксидантної системи спостерігалось зменшення активності СОД вже на 1-у добу (стадія опікового шоку) в 1,65 раза порівняно з контролем, далі показник знижувався на 7-у добу в 2,03 раза та на 14-у добу – в 2,18 раза відповідно (стадія токсемії). Потім активність СОД дещо відновилась, але контрольних значень не досягла. Також відзначалось зниження активності каталази, максимально у 1,47 раза на 1-у добу, після чого вона дещо підвищувалась, але залишалась нижче за контрольну. В умовах експериментальної корекції ліпіном активність СОД знижувалась максимально на 14-у добу – у 1,3 раза, що відповідало стадії пізньої токсемії, а на 28-у добу показник дорівнював контрольним значенням. Крім того, активність каталази також знижувалась найбільше на 14-у добу – у 1,44 раза, проте на 28-у добу поверталась до вихідних показників.

Отже, застосування препарату «Ліпін» в умовах опікової хвороби підвищує активність ензимних антиоксидантних систем.

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ТУМОРНЕКРОТИЧНОГО ФАКТОРА- α ТА ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ У ВАГІТНИХ ЖІНОК ІЗ ОЖИРІННЯМ

ТАРАСЕНКО К. В.

*ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава;
e-mail: kons-tarassenko@yandex.ru*

Мета дослідження – вивчити зв'язок змін рівня туморнекротичного фактора- α (ТНФ- α) та інсулінорезистентності з ускладненнями вагітності у жінок із ожирінням.

Під спостереженням знаходились вагітні жінки в третьому триместрі віком від 18 до 37 років, які дали інформовану згоду на участь в дослідженні. Основну групу склали жінки з ожирінням I ступеня (66 жінок) та II ступеня (36 жінок), контрольну групу – 30 жінок з фізіологічною масою тіла. Ступінь ожиріння визначали з урахуванням маси тіла, зросту, віку та терміну вагітності. Вміст інсуліну і ТНФ- α в сироватці крові натщесерце визначали імуноензиматичним методом за допомогою тест-систем у відповідності до інструкції виробника (DRG, США), вміст глюкози – глюкозоксидазним методом, інсулінорезистентність – за індексом НОМА. Аналіз результатів дослідження проведений з використанням статистичної програми Statistica 6,0 (StatSoft, США).

Обстеження показали, що у вагітних жінок із ожирінням I та II ступенів вміст ТНФ- α в сироватці крові був достовірно більшим, ніж в контрольній групі вагітних з фізіологічною масою тіла ($6,89 \pm 0,66$ та $5,71 \pm 0,72$ нг/мл проти $3,86 \pm 0,55$ нг/мл відповідно; $P < 0,05$). При цьому індекс НОМА у жінок із ожирінням I ступеня становив $3,81 \pm 0,58$ ум.од., максимально підвищився в 2,3 раза у вагітних із ожирінням II ступеня і досяг $4,22 \pm 0,81$ ум.од., що достовірно перевищує відповідний показник контрольної групи вагітних – $1,83 \pm 0,28$ ум.од. ($P < 0,05$). Інсулін – гормон, необхідний для функціонування всіх тканин і органів та підтримки гомеостазу. Зниження чутливості клітин до інсуліну у вагітних з ожирінням погіршує функцію транспортерів глюкози та знижує енергозабезпечення організму матері і плоду. ТНФ- α як антагоніст інсуліну з широким спектром дії прискорює апоптоз адипоцитів та ініціює розвиток системного запалення низької інтенсивності [Corryck, 2001]. Отже, підвищений рівень ТНФ- α у вагітних жінок із ожирінням сполучається з прогресуванням інсулінорезистентності. За нашими даними, загроза переривання вагітності та передчасних пологів у жінок із ожирінням I ступеня збільшилась на 7,5%, а при ожирінні II ступеня – на 26,2% порівняно

з контролем. Частота гестозів зростала із збільшенням маси тіла вагітних і становила 22,7% у жінок із ожирінням I ступеня ($P < 0,05$) та 64,3% – у жінок із ожирінням II ступеня проти 14,3% – у жінок із фізіологічною масою тіла. Збільшення частоти ускладнень вагітності у жінок з ожирінням відображає прогресування метаболічних розладів, пов'язаних із розвитком інсулінорезистентності.

Таким чином, ожиріння у вагітних жінок супроводжується підвищенням рівня ТНФ- α в сироватці крові та зростанням інсулінорезистентності порівняно з відповідними показниками у вагітних жінок із фізіологічною масою тіла. Ожиріння у жінок збільшує частоту ускладнень вагітності, метаболічною основою яких є інсулінорезистентність.

ДИКЛОФЕНАК–ІНДУКОВАНА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ УМОВ

ТИМОШОК Н. О., БУБНОВ Р. В., НЕЧИПУРЕНКО О. О., СПІВАК М. Я.

*Інститут мікробіології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: N_timoshok@ukr.net*

Нерідко застосування диклофенаку (DCF) у терапевтичних дозах супроводжується розвитком патологічних процесів. Прояви гепатотоксичності у пацієнтів під впливом DCF обумовлені утворенням реактогенних метаболітів за участю ізоензимів цитохрому P450 (CYP3A4, CYP2C9). Адекватною моделлю для дослідження структурно-метаболічних порушень в печінці під впливом DCF є щури, у яких інактивація препарату відбувається за участю P450 (CYP3A4, CYP2C11). Проте, біотрансформація DCF у людини та щурів супроводжується утворенням спільних метаболітів 3'-гідрокси-, 4'-гідрокси-, 5-гідрокси-, 4',5-дигідрокси - DCF. Мета роботи – оцінити в умовах експерименту структурно-метаболічні порушення в печінці щурів під впливом DCF шляхом визначення рівнів аланінамінотрансферази (АЛТ) та виявлення патологічних змін в органах за даними гістологічного дослідження та доплерографії.

Вивчення впливу DCF на організм щурів проводили в умовах тривалого дослідження на 50 статевозрілих щурах лінії Вістар масою 180–220 г. З експериментальних тварин було сформовано дві групи, що отримували щодоби DCF у дозах 5,0 мг/кг та 10,0 мг/кг протягом 4 діб. Через два тижні після останньої ін'єкції препарату за даними УЗД реєстрували дифузні зміни у печінці тварин. Біопунктати печінки отримували за допомогою пункційного втручання за адекватної візуалізації. Ступінь пошкодження гепатоцитів оцінювали за показниками АЛТ у сироватці крові щурів. Встановлено, що DCF в одній і тій самій концентрації проявляв досить різний токсичний ефект, у залежності від статі тварин. Так, для самців токсичною виявилась доза 20 мг/кг, що супроводжувалось загибеллю 10% тварин. У цей же час, для самок, гибель 10% тварин спостерігалась за кумулятивною дозою 40 мг/кг. Введення тваринам DCF навіть у терапевтичних дозах (5 мг/кг), на 20-ту добу супроводжувалось значними порушеннями функцій печінки та кишківника, підвищенням у 1,5 раза рівня АЛТ у циркуляції. За даними цитоморфологічних досліджень некротичні та дистрофічні процеси в гепатоцитах достатньо виражені вже на 20-ту добу, це відбивається в зміні ультраструктури та морфології клітин печінки, різкому зниженні глікогену, набряканню ендотелію синусоїдів, розвитку жирової інфільтрації. Доплеграфічні дослідження виявили гепатомегалію, дифузні зміни структури печінки та спленомегалію.

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ГЛІКОЛІЗУ В ЕРИТРОЦИТАХ ТЯЖКООБПЕЧЕНИХ

¹ФЕДОРОВА Г. О., ²БОРЗЕНКО Б. Г.

¹Інститут невідкладної та відновної хірургії
ім. В. К. Гусака НАМН України, Донецьк;

²Донецький національний медичний університет, Україна;
e-mail: hannafed@yandex.ua

Гліколіз забезпечує енергетичні ресурси для підтримання цілісності мембрани еритроцитів та оксиген-транспортувальної функції. У 1-шу добу після термічної травми в опіковому шоці (ОШ) у постраждалих крім циркуляторної гіпоксії також має місце гемічна, отже дослідження еритроцитарної дисфункції у обпечених залишається актуальним. Метою цієї роботи було вивчення перебігу гліколізу в еритроцитах хворих із тяжким ОШ.

Було досліджено 48 пацієнтів із тяжкими опіками в 1-шу добу після травми та 10 здорових людей контрольної групи. За змінами біохімічних показників, обстежених було вирішено розподілити на дві групи: 1-ша ($n = 39$) з помірними змінами метаболізму та 2-га ($n = 9$) з яскраво вираженим дисметаболізмом. У гемолізаті визначали концентрацію глюкози за методом Явербаум, активність ЛДГ кінетичним методом із піруватом. Також було досліджено показник антиоксидантного (АО) захисту мембран еритроцитів – вміст відновленого глутатіону (GSH) по реакції з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили з використанням «STATISTICA 6.0».

У 1-й групі активність ЛДГ складала 766 ± 31 мкат/л, у 2-й – 695 ± 68 , в контрольній – 987 ± 60 . Вірогідне зниження активності ЛДГ ($P < 0,001$) у обох групах свідчило про низьку швидкість гліколізу в еритроцитах. На нашу думку, причиною цього є значне падіння рівня глюкози. Так, якщо в контрольній групі концентрація глюкози дорівнювала $4,34 \pm 0,23$ ммоль/л, то в 1-й – $1,60 \pm 0,44$, а в 2-й – $0,40 \pm 0,11$. Отже, вірогідне зменшення головного енергетичного субстрату еритроцитів мало місце не тільки у порівнянні з контролем ($P < 0,001$), але і в порівнянні між 1-ю та 2-ю групами ($P < 0,05$). В роботах деяких дослідників було показано, що в умовах окислювального стресу в еритроцитах знижується швидкість гліколізу, тому ми досліджували вміст одного з основних елементів АО захисту еритроцитів – GSH. Виявили, що за зменшення концентрації GSH в обох групах спостерігалась та ж тенденція, що і в падінні рівня глюкози. У контрольній групі вміст GSH був 1338 ± 115 мкмоль/л, в 1-й групі – 837 ± 56 , в 2-й – 663 ± 72 . Тобто, між групами спостерігались вірогідні ($P < 0,05$) відмінності, хоча клінічно стан у всіх обстежених був однаково дуже тяжкий. Виявлене нами різке зниження вмісту GSH та глюкози у хворих 2-ї групи напевно мало вплив на їх стан. Ретроспективний аналіз історій хвороб даних пацієнтів показав, що всі вони померли на 5–9-ту добу після травми.

Падіння рівня глюкози в 10 разів у пацієнтів з тяжким ОШ свідчить про незворотне виснаження основного енергетичного субстрату еритроцитів, наслідком якого буде поглиблення гемічної гіпоксії та розвиток інших загрозливих порушень. Одночасне зменшення вмісту GSH у 2 та більше рази у таких хворих є не тільки ознакою низької активності АОЗ в еритроциті, але також може приводити до повного розбалансування обміну глюкози. Визначення рівня GSH та глюкози в еритроцитах тяжкообпечених може бути використано, як прогностичний критерій оцінки ризику несприятливого перебігу хвороби.

**ВПЛИВ КАДМІЮ НА АКТИВНІСТЬ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ
ЕНЗИМІВ У МОЗКУ ТА СЕРЦІ ЩУРІВ**

¹ФОМЕНКО О. З., ¹ШАУЛЬСЬКА О. Е., ²У СІ, ¹ШЕВЦОВА А. І., ³УШАКОВА Г. О.

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»;

²Харківський національний університет ім.В. Н. Каразіна, Україна;

³Дніпропетровський національний університет

імені Олесь Гончара, Україна;

e-mail: olfom@ua.fm

Широковідомою є токсична дія кадмію: він сприяє оксидативному стресу, інгібує та дисрегулює клітинні функції та може мімікувати дію магнію та цинку. Але, наразі дія малих доз кадмію є недостатньо вивченою. Метою нашої роботи було вивчення зміни рівня активності трипсиноподібних ензимів (ТПА) та матриксних металопротеїназ ММП2 і ММП9 у щурів за умов впливу низьких доз кадмію.

В експерименті використовувались 18 щурів лінії Вістар, які були поділені на групи: 1-ша – інтактні щури, 2-га та 3-я – тварини, що отримували кадмій перорально у дозі 0,1 мкг/кг та 1 мкг/кг відповідно протягом 37 днів. Після закінчення експерименту отримували цитозольну фракцію тканин мозку та серця, в якій визначали активність протеолітичних ензимів. Активність желатиназ оцінювали методом прямої ензим-зимографії. Концентрацію трипсиноподібних ензимів досліджували колориметричним методом, використовуючи субстрат бензоїларгінін- ρ -нітроанлід.

Абсолютний рівень трипсиноподібної активності у щурів другої групи зменшувався як у мозку (з $0,24 \pm 0,05$ МО/мл у інтактних щурів до $0,19 \pm 0,03$ МО/мл), так і у серці (з $0,74 \pm 0,13$ МО/мл у інтактних щурів до $0,67 \pm 0,10$ МО/мл). У щурів третьої групи спостерігалось підвищення концентрації ТПА у мозку (до значень $0,27 \pm 0,06$ МО/мл) при майже незмінній концентрації у серці. Вживання кадмію призводило до зменшення співвідношення рівня ТПА до загального протеїну в мозку: у другій групі цей показник становив $0,03 \pm 0,004$ МО/мг, у третій групі – $0,038 \pm 0,07$ МО/мг у порівнянні з $0,044 \pm 0,011$ МО/мг у контрольній групі. У серцевому м'язі, навпаки, спостерігалось підвищення рівня ТПА/загальний протеїн до $0,081 \pm 0,012$ МО/мг та $0,082 \pm 0,019$ МО/мг у другій та у третій групах, відповідно, у порівнянні з $0,072 \pm 0,012$ МО/мг у контрольній групі. У мозку зростала активність ММП2 у другій групі ($113,0 \pm 3,1\%$) та проММП9 у третій групі ($170,0 \pm 23,2\%$). У серці щурів другої групи зменшувалась активність проММП9 та ММП9 ($70,8 \pm 4,8$ та $69,2 \pm 5,1\%$ відповідно) та збільшувалась – проММП2 ($124,7 \pm 16,5\%$), хоча рівень активності зрілої форми ММП2 практично не змінювався. У міокарді щурів третьої групи зростав рівень активності проММП9 та ММП9 ($116,7 \pm 8,8\%$ та $144,8 \pm 12,8\%$ відповідно), ММП2 ($132,7 \pm 4,8\%$) при майже незмінній активності проММП2. Порівняльний аналіз активності протеолітичних ензимів у щурів 2-ї та 3-ї груп показав достовірність змін активності проММП9 та ММП9 ($P < 0,01$ та $P < 0,001$ відповідно).

Низькі дози кадмію призводять до зміни рівня активності трипсиноподібних ензимів та желатиназ А та В. Найбільші зміни відбуваються у серцевому м'язі. Спостерігається залежність рівня активності металопротеїназ проММП9 та ММП9 у серці від дози кадмію.

ОЦІНКА ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ПОДВІЙНОМУ БЛОКУВАННІ ЦОГ-2/5-ЛОГ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ ШЛУНКА У ЩУРІВ

ХАВРОНА О. П., БІЛЕЦЬКА Л. П.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: o.khavrona@gmail.com*

Мета роботи – оцінити стан ендогенної інтоксикації за інтенсивністю процесів ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів (ОМП), вмістом молекул середньої маси (МСМ) та нітрит-аніону (NO^2) у крові щурів з експериментальною виразкою шлунка (ЕВШ).

Дослідження проводили на статевозрілих щурах-самцях масою 180–220 г. Тварин поділили на 4 групи: I – 15 інтактних щурів, II – 20 щурів з ЕВШ, яку зумовлювали введенням адреналіну 10 мг/кг (в/о), III – 20 щурів з ЕВШ, яким вводили дом'язово 2-аміно-5-(3,5-дитерт-бутил-4-гідроксибензиліден)-тіазол-4-один у дозі 20 мг/100 г, яка за своєю структурою ідентична селективному блокатору ЦОГ-2/5-ЛОГ дарбуфелону. Речовину вводили за 30 хв до моделювання виразки. Декапітацію тварин проводили на тлі уретанового знечулення з дотриманням біоетичних норм. У сироватці крові визначали: вміст ТБК-активних продуктів за методом Тімірбулатова Р. А., Селезньова Є. І., нітрит-аніону – за методом Green L. C., David A. W., рівень ОМП – за методом Дубініної О. О., концентрацію МСМ – за методом Камишнікова В.С. Одержані результати статистично опрацьовані за *t*-критерієм Стьюдента за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 8.0.

Розвиток виразкоутворення супроводжувався зростанням у сироватці крові щурів вмісту ТБК-активних продуктів в 1,8 раза ($P < 0,05$), рівня ОМП в 3 рази ($P < 0,05$), МСМ в 2,8 раза ($P < 0,05$) та вмісту NO^2 в 2,4 раза ($P < 0,05$) порівняно з контролем. При застосуванні подвійного блокатора ЦОГ-2/5-ЛОГ дарбуфелону відзначалося зниження вмісту ТБК-активних продуктів в 1,5 раза ($P < 0,05$), рівня ОМП в 2,6 рази ($P < 0,05$), МСМ в 1,9 рази ($P < 0,05$) та вмісту NO^2 в 2,2 рази ($P < 0,05$) (всі дані при лікуванні порівняно з ЕВШ).

У сироватці крові щурів при ЕВШ виявлено зростання процесів ліпопероксидації та ОМП, підвищення вмісту МСМ і NO , що вказує на зростання рівня ендогенної інтоксикації. Застосування подвійного інгібітора ЦОГ-2/5-ЛОГ нормалізує показники окислювально-антиокислювального гомеостазу, зменшуючи інтенсивність запального процесу. Враховуючи, що дарбуфелон має протизапальний ефект класичних нестероїдних протизапальних препаратів, але дозволяє уникнути побічних дій останніх, у першу чергу, негативного впливу на травний тракт та серцево-судинну систему, можна рекомендувати використовувати його у комплексній терапії виразкової хвороби шлунка.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ПРОДУКТОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ КРЫС

¹АМЖАД ХАМДАЛЛАХ, ²ДАВЫДОВ В. В.

*¹Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;
²ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков;
e-mail: vaddavydov@mail.ru*

В процессе индивидуального развития происходит изменение структуры мышечной ткани и ее функциональной активности. Со временем оно проявляется в возникновении саркопении – состояния, которое сопровождается уменьшением массы мышц и силы их сокращения. Важную роль в развитии саркопении приобретает оксидативный стресс. Однако сведения о его проявлении в скелетных мыш-

цах при старении достаточно противоречивы. Учитывая это, целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение содержания продуктов свободнорадикального окисления протеинов и липидов в митохондриальной и постмитохондриальной фракции бедренной мышцы крыс, находящихся на разных этапах индивидуального развития.

В работе использовали 30 крыс-самцов линии Вистар. Животных разделили на 3 возрастные группы: 1-я – 1,5-месячные (крысы в возрасте полового созревания); 2-я – 12-месячные (взрослые половозрелые); 3-я – 24-месячные (старые). В митохондриальной и постмитохондриальной фракции бедренной мышцы определяли содержание веществ, дающих положительную реакцию с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивных продуктов), карбонилированных протеинов (КП), а также флюоресцирующих конечных продуктов метаболизма типа шиффовых оснований (ШО).

Исследования показали, что в митохондриальной фракции бедренной мышцы взрослых крыс значительно возрастало содержание КП, ТБК-реактивных продуктов и ШО, по сравнению с таковыми у животных пубертатного возраста. Аналогичная ситуация была характерна и для старых крыс. В митохондриях мышцы 24-месячных животных уровень ШО и величина индекса ШО/ТБК+ была выше, чем у взрослых крыс. В постмитохондриальной фракции мышечной ткани, на протяжении изученного периода онтогенеза, поддерживалась стабильная концентрация ТБК-реактивных продуктов и ШО. Более того, у взрослых и старых крыс существенно понижалось значение индекса ШО/ТБК+, хотя у 24-месячных животных величина данного индекса была существенно выше, чем у 12-месячных.

Полученные данные указывают на то, что в процессе онтогенеза в митохондриях скелетной мышцы возрастает содержание продуктов свободнорадикального окисления протеинов и липидов. Формирование подобного сдвига нехарактерно для постмитохондриальной фракции. Причиной этого может быть возрастная модуляция скорости образования радикалов в митохондриях, изменение структуры внутренней митохондриальной мембраны, а также состояния их систем антиоксидантной защиты и репарации. Последнее связано с появлением возрастных особенностей в утилизации карбонильных продуктов свободнорадикального окисления. Они заключаются в том, что у старых крыс эти цитотоксические продукты метаболизма в меньшей мере, чем у взрослых, вовлекаются в ферментативские пути утилизации, а используются преимущественно в некаталитических реакциях, связанных с образованием аддуктов с нуклеофильными молекулами. Следствием накопления подобных аддуктов становится дисфункция мышечных волокон, которая в свою очередь, предопределяет возникновение саркопении. В отличие от старых крыс, у взрослых половозрелых животных карбонильные продукты свободнорадикального окисления липидов и протеинов в митохондриях вовлекаются в ферментативские пути катаболизма, что приобретает важную роль в защите мышечных клеток от повреждения при оксидативном стрессе.

ДЕЙСТВИЕ НЕАБЛАТИВНОГО ФОТОТЕРМОЛИЗИСА ПОЛЯРИЗОВАННОГО ПОЛИХРОМАТИЧЕСКОГО НЕКОГЕРЕНТНОГО СВЕТА НА ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЕ ПАРАМЕТРЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ТКАНЯХ КРЫС

*ХМИЛЬ Н. В., ОВСЯННИКОВА Т. Н., ЧАЙКОВСКАЯ Н. В.,
ПОДОПРИГОРОВА В. Г.*

*Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: nat-niig@yandex.ru*

Одной из критических технологий в дерматокосметологии является использование физико-химических факторов для лечения всех аспектов поражения кожи без развития побочных эффектов. Считается, что наиболее безопасным из них является полихроматический поляризованный некогерентный свет (ППС). Развитие побочных эффектов фототермолизиса при использовании рекомендованного в клинике режима ППС практически не изучено. Целью работы было – изучение действия

полихроматического поляризованного некогерентного низкоэнергетического света на развитие биорадикальных изменений в тканях лабораторных животных и в сыворотке крови.

Исследования проводились на белых лабораторных крысах весом 180–250 г, разделенных на группы: 1 – контрольная ($n = 14$), 2 – основная группа ($n = 9$). Облучение ППС проводилось один раз в сутки на протяжении 7 дней, длина волны от 480 до 3400 нм (степень поляризации 95%), площадь участка спины 5 см², экспозиция 8 мин, плотность потока мощности около 40 мВт/см². Определение параметров оксидативного стресса (уровня пероксидов липидов (ПЛ) и антиоксидантной ёмкости (АОЕ)) в сыворотке крови и гомогенатах тканей проводилось при помощи активированной родамином Ж хемилюминесценции в присутствии ионов Fe²⁺. Параметры активности церулоплазмينا (ЦП), трансферрина (ТР) и антиоксидантной системы церулоплазмин-трансферрин (АОС ЦП/ТР) сыворотки крови исследовались методом ЭПР-спектроскопии. Статистический анализ проводился с использованием программы Microsoft Excel 2003. Для количественной оценки типичного уровня и вариации изучаемых признаков использовались соответственно медиана (Me), межквартильный интервал (25-й (Lq) и 75-й (Uq) процентиля). Проверку различий между группами проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

После курса облучения ППС в основной группе наблюдалось достоверное увеличение уровня ПЛ во всех тканях (коже, печени, сердце): 99 (96;102) отн. ед., 89 (83;91) отн. ед. и 100 (95;102) отн. ед. ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, значения которого составили: 60 (60;63) отн. ед., 71 (61;96) отн. ед. и 72 (69;75) отн. ед., соответственно, и снижение уровня ПЛ в сыворотке крови - 59 (57;68) отн. ед. по сравнению с контролем 74 (73;77) отн. ед. ($P < 0,05$). Параллельно выявлено системное достоверное снижение АОЕ в гомогенатах тканей (кожи, печени, сердца): 3 (0;5) отн. ед., 3 (2;5) отн. ед. и -9 (-16;-5) отн. ед. ($P < 0,05$) соответственно, по сравнению с контролем, значения которого составили: 36 (34;37) отн. ед., 40 (37;43) отн. ед. и 36 (26;40) отн. ед., соответственно, и снижение АОЕ в сыворотке крови - 14 (12;16) отн. ед. по сравнению с контролем 25 (22; 31) отн. ед. ($P < 0,05$). Сравнение уровней ЦП, ТР и активности АОС ЦП/ТР в исследуемой группе показало, что после 7-дневного облучения происходило снижение уровня ЦП с 81,38 (77,24;82,76) усл. ед. в контрольной группе до 50,48 (45,95;65,71) усл. ед. в основной группе ($P > 0,05$) и ТР с 70,35 (57,93;89,66) усл. ед. в контрольной группе до 52,38 (35,24;53,33) усл. ед. в основной группе ($P > 0,05$).

Анализ результатов показал, что процедуры с использованием ППС вызывают развитие биорадикального дисбаланса в коже, печени и сердце за счет резкого снижения уровня АОЕ. Поскольку структурных изменений в печени и сердце не выявлено, следует считать, что в первые сутки после курса ППС данные дисбалансы являются адаптивной реакцией, что, вероятно, не требует антиоксидантной терапии.

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ АРТИШОКУ НА МЕТАБОЛІЗМ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ ДІЇ НІТРИТУ НАТРІЮ

ХОПТА Н. С., БАЗАЛИЦЬКА І. С., ЕРСТЕНЮК Г. М.

*ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Україна;
e-mail: khopta@list.ru*

Зростання нітратно-нітритного навантаження на організм вимагає пошуку ефективних і безпечних засобів корекції їх токсичного впливу, зокрема на кісткову тканину (КТ). Нашу увагу привернув артишок – рослина з унікальним комплексом біологічно активних речовин, довгою історією та перспективним майбутнім. Мета дослідження – з'ясувати вплив препарату «Артишоку Екстракт-Здоров'я» (АЕЗ) на показники кісткового метаболізму у щурів при експериментальній нітритній інтоксикації.

Експерименти проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 180–250 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. Нітритну інтоксикацію моделювали шляхом вве-

дення водного розчину натрій нітриту (NaNO_2) з питною водою в дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$ протягом 10 діб, а після цього з метою корекції застосовували АЕЗ згідно інструкції для медичного застосування препарату. Дослідних тварин було згруповано наступним чином: 1-ша група – одержувала NaNO_2 ; 2-а – $\text{NaNO}_2 + \text{АЕЗ}$; 3-я – інтактні. Забір матеріалу проводили після декапітації під легким ефірним наркозом на 1-, 14- та 28-у доби після завершення введення токсиканта з дотриманням вимог біоетики. Для оцінки впливу ксенобіотика та ефективності застосування препарату АЕЗ проводили визначення наступних біохімічних показників: у плазмі крові визначали концентрацію загального та йонізованого кальцію, магнію, рівень фосфатів, активність лужної (ЛФ) та кислої (КФ) фосфатаз за допомогою уніфікованих методик та рівня паратгормону (імуноензиматично). У золі стегнових кісток визначали вміст кальцію, магнію, міді та цинку атомно-абсорбційним методом. Денситометрично визначали мінеральну щільність кісткової тканини (МЩКТ). Отримані результати статистично обробляли з використанням комп'ютерної програми Statistika.

Результати дослідження вказують на суттєві порушення показників фосфорно-кальцієвого обміну за умов дії NaNO_2 . Зокрема, в ранньому періоді спостерігалось різке збільшення концентрації Ca^{2+} , а саме на 81,8% ($P < 0,001$). У наступні періоди (14–28-ма доба) нами відзначено зниження як загального, так і Ca^{2+} . Такі зміни концентрації Ca^{2+} у плазмі крові супроводжувались зростанням рівня паратгормону на 18%. Водночас, концентрація фосфатів найістотніше зростала на 1-шу добу – 82,0%, а вміст Mg^{2+} у плазмі крові різко знижувався на 44,5–55,4%. Співвідношення активностей ЛФ/КФ, яке характеризує баланс процесів остеосинтезу та резорбції кістки, достовірно зменшувалось, а найнижчі значення фіксувались на 14-ту добу – у 3,13 раза. Рівень Са в золі кісток уражених NaNO_2 тварин знижувався на 10–25%, а Mg зростав на 28% на 1-шу добу спостереження ($P < 0,001$), а потім знижувався до показників інтактних. Вміст Zn і Cu у стегнових кістках уражених тварин був нижчим за контрольні показники протягом всього періоду спостереження. У тварин знижувалась МЩКТ на 18,9–28,2%, особливо на 14-ту добу експерименту. Застосування АЕЗ за нітритної інтоксикації зумовило наступне: суттєво зростала МЩКТ, яка до кінця експерименту достовірно не відрізнялася від контрольних значень, спостерігалась чітка тенденція до нормалізації вмісту Са, Mg, Zn та Cu у золі стегнових кісток. Одночасно спостерігалась тенденція наближення показників фосфорно-кальцієвого обміну, рівня паратгормону та індексу ЛФ/КФ у плазмі крові до показників інтактних тварин.

Досліджено вплив АЕЗ на МЩКТ та біохімічні показники, які характеризують метаболічні процеси в КТ тварин за впливу NaNO_2 , що вказує на ефективність і можливість застосування для зниження токсичного впливу досліджуваного ксенобіотика. Отримані результати можна пояснити унікальним комплексом біологічно активних речовин, які входять до складу екстракту артишоку.

HIGLY SELECTIVE INOS INHIBITOR N-(3-(AMINOMETHYL)BENZYL)ACETAMIDINE PREVENTS OXIDATIVE STRESS IN EXPERIMENTAL CONTACT DERMATITIS

HUDAN-TSILIO I. I., KORDA M. M.

*I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine;
e-mail: kordamm@yahoo.com*

The skin is a very common route of absorption for the majority of chemicals and the first barrier against the physical and chemical agents present in the environment. Skin exposure to chemicals very often results in the development of contact or allergic dermatitis. Irritative contact dermatitis can be caused by the proinflammatory and noxious effects of various xenobiotics, e.g. metals, acids, alkalis, detergents, etc. Nickel on regular contact, is known to cause dermatitis and other skin disorders. It has been shown that nitrooxidative stress plays important role in the pathogenesis of inflammatory skin diseases. A significant increase in iNOS was found in both irritant and allergic contact dermatitis. Therefore, we considered of interest to investigate

the effect of highly selective potent iNOS inhibitor N-(3-(aminomethyl)benzyl)acetamide (1400W) on the intensity of oxidative stress in contact dermatitis caused by nickel sulfate.

Male rats were divided into 5 groups of 8 animals each. Group I: control, sensitized only with solid vaseline; group II: animals with contact dermatitis induced by sensitization with 5% NiSO₄ dissolved in vaseline; group III: rats with contact dermatitis treated with empty polymeric chitosan nanoparticles; group IV: rats with contact dermatitis treated with free 1400W dissolved in vaseline; group V: rats with contact dermatitis treated with nanoencapsulated 1400W dissolved in vaseline. Nanoparticles were prepared by ionic cross-linking of chitosan with pentasodium tripolyphosphate (TPP) anions. For the preparation of 1400W-loaded nanoparticles chitosan solution (0.2%) was incubated with test drug solution (1 mg/ml) for 30 min and then 0.1% TPP solution was added in a drop-wise manner under constant magnetic stirring. The resulted 1400W loaded nanoparticles were harvested by ultracentrifugation. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), carbonyl proteins and reduced glutathione levels as well as superoxide dismutase and catalase activities were measured in liver homogenate.

A statistically significant increase in the levels of TBARS (by 37%), carbonyl proteins (by 56%) and catalase activity (by 96%) were observed in the liver of animals with skin lesion by nickel sulfate. At the same time the reduced glutathione level and superoxide dismutase activity were found to be decreased (by 50 and 44% correspondingly) in the liver of rats with contact dermatitis. Daily treatment with both free and nanoencapsulated 1400W was able to prevent the activation of lipid and protein peroxidation induced by nickel sulfate and improve the functioning of antioxidant system enzymes. It is important to note that the group V animals showed more promising results than the group IV, hence the efficiency of 1400W-loaded nanoparticles was significantly higher compared to the treatment with free iNOS inhibitor. Furthermore, the group III presented results similar to the group II, which may be an inherent property of the nanoparticles because dermatitis was also induced in this group.

Thus, according to our results, it is hypothesized that cutaneous lesions by the sensitization of rats with nickel sulfate may be related to the redox imbalance observed in the hepatic tissue. The topical administration of iNOS inhibitor N-(3-(aminomethyl)benzyl)acetamide, both in the free and nanostructured formulations, was effective in preventing the oxidative stress in the liver tissue of rats with contact dermatitis. Furthermore, the efficiency of nanoencapsulated iNOS inhibitor was higher compared to free one. The stronger effect of 1400W incorporated into polymeric nanoparticles could be explained by the fact that stratum corneum acts as a barrier and limits the delivery of drugs to deeper skin layers. The using of polymeric nanoparticles promotes the transport of sufficient amounts of iNOS inhibitor into deep layers of skin through the stratum corneum.

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ НА СТУПІНЬ ДЕСТРУКТИВНИХ ЗМІН СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ У ЩУРІВ

*ЦЕЙСЛЕР Ю. В., НУРИЩЕНКО Н. С., ПОДПАЛОВА О. М.,
МАРТИНЮК В. С., ПЕЛЮХ Л. І.*

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: yuliya.tseysler@gmail.com*

Алкоголізм є однією з першорядних медико-соціальних проблем сучасного суспільства. З одного боку, алкоголізму притаманні властивості наркотичної залежності, з іншого – багатогранний патологічний вплив алкогольної інтоксикації на органи і системи організму, що унеможливує подолання наслідків тривалого споживання алкоголю. Хворі на алкоголізм помирають, як правило, не від алкогольної хвороби, а від супутніх захворювань і розладів, які розвиваються в результаті зниження імунних властивостей захисту організму та його резистентності до подразників різноманітної природи, ураження життєво важливих органів і систем. Як виявилось, хронічне споживання алкоголю спричинює зміну навіть в скелетних м'язах, які вважаються стійкими до дії етилового спирту. Однак механізми розвитку клінічних станів, що проявляються у зниженні маси м'язів, їх слабкості,

затрудненні ходи, судомах, залишаються маловивченими. У зв'язку з цим метою нашого дослідження була оцінка деструктивних порушень скелетних м'язів алкоголізованих щурів за рівнем активності креатинкінази плазми крові як маркерного ензиму пошкодження тканин організму, а також АТРазної активності актоміозину – структурної і функціональної одиниці скорочення.

Для аналізу розвитку деструкційних змін у часі хронічну алкоголізацію тварин відтворювали протягом 2, 4, 6 та 8 місяців, використовуючи 36%-й етанол. Вважається, що при хронічній алкогольній міопатії страждають м'язові волокна швидкого (анаеробного) типу ІІb, тому для дослідження були обрані м'язи *plantaris* щурів, що містять переважно такі волокна. Mg^{2+} - і K^{+} -АТРазну активність актоміозину визначали за кількістю неорганічного фосфату (P_i) (нмоль), який утворюється шляхом відщеплення від АТР активними центрами міозинових молекул за загальноприйнятим методом. Активність креатинкінази в плазмі крові визначали згідно протоколу для стандартного набору NAC Liquid 100 (Erba Lachema, Чеська Республіка). Активність ензиму оцінювали за зміною абсорбції дослідного зразка при $\lambda = 340$ нм.

Вивчення АТРазної активності актоміозину скелетних м'язів *plantaris* показало, що Mg^{2+} -АТРазна активність впродовж 4-х місяців вживання алкоголю зберігалась у межах норми, а через 6 місяців знизилась на 30%, через 8 місяців – на 40% відносно контрольних груп. K^{+} -АТРазна активність актоміозину м'язів *plantaris* зростала на 32% відносно контрольного рівня через 2 місяці, але поверталася до рівня контролю на більш пізніх строках вживання алкоголю. Креатинкіназна активність в плазмі крові зі збільшенням терміну вживання алкоголю майже лінійно зростала порівняно з контрольними групами – на 79, 101, 224 та 254% відповідно після 2-х, 4-х, 6-ти та 8-ми місяців алкоголізації.

Отже, хронічна алкоголізація починаючи з перших місяців супроводжується ушкодженням скелетного м'яза, а також модифікацією актоміозинового протеїнового комплексу, що є основною одиницею м'язового скорочення. Із літератури відомо, що підвищення активності креатинкінази, тканинспецифічного ензиму м'язів, у плазмі крові спостерігається через його вихід з клітин при їх пошкодженні, тому отримані результати свідчать про розвиток деструктивних процесів в структурі м'язових клітин в умовах хронічної алкоголізації. При цьому, деструктивні зміни безпосередньо залежали від тривалості алкоголізації, оскільки величина креатинкіназної активності в нашому дослідженні практично лінійно зростала зі збільшенням терміну вживання алкоголю. Це свідчить про поступовий розвиток деструктивних процесів у м'язових тканинах щурів.

ДІЯ НАНОЧАСТИНОК ДІОКСИДУ КРЕМНІЮ НА АКТИВАЦІЮ ТА АГРЕГАЦІЮ ТРОМБОЦИТІВ ЛЮДИНИ

¹ЧЕРНИШЕНКО В. О., ¹ГРИЩУК В. І., ²ГАЛАГАН Н. П.,
¹ЧЕРНИШЕНКО Т. М., ¹СОКОЛОВСЬКИЙ В. А., ¹КОРОЛЬОВА Д. С.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України, Київ;

e-mail: Gryshchukv@gmail.com

Нанорозмірні частинки (4–40 нм) високодисперсного діоксиду кремнію (ВДК) здатні до швидкої зупинки кровотеч (Бондарчук и др., 2003). Природа цього явища поки залишається невизначеною. Однак, фізико-хімічні властивості поверхні ВДК дозволяють створювати біологічно активні препарати, які можуть бути використані в медичній практиці. Тим більше, що наночастинки кремнезему можуть бути перспективними агентами доставки лікарських засобів (Kim et al., 2014). Тому важливим питанням сучасної біотехнології та наномедицини є не тільки створення таких засобів, але й вивчення взаємодії ВДК із клітинами крові, особливо тромбоцитами. Метою нашої роботи було дослідження впливу наночастинок ВДК на інтактні тромбоцити людини, їх активацію та агрегацію.

У ході досліджень вивчали дію ВДК на тромбоцити людини з використанням агрегатометрії та цитометрії. Показано, що ВДК у широкому діапазоні концентрацій (1–0,0001 мг/мл) не зумовлює

агрегації та не індукує змін форми та гранулярності інтактних тромбоцитів людини за інкубації до 1 год.

Методом агрегатометрії було вивчено дію ВДК на колаген- та ADP-індуковану агрегацію тромбоцитів та збагаченої тромбоцитами плазми крові людини (ЗТПК). Показано, що внесення 10 мкг/мл ВДК у ЗТПК подовжує lag-період колагеніндукованої агрегації тромбоцитів удвічі, а також зниження швидкості та ступеня ADP-індукованої агрегації тромбоцитів у 2 та 2,5 раза відповідно. Тотожний ефект ВДК спостерігали і під час дослідження агрегації тромбоцитів за присутності різної кількості фібриногену (від 0,5 до 3 мг/мл). Виявлено зменшення ефекту інгібування агрегації тромбоцитів зі зниженням вмісту фібриногену в середовищі. Це вказує на те, що інгібувальна дія ВДК на агрегацію тромбоцитів прямо пов'язана з сорбцією на його поверхні фібриногену. Таке припущення відповідає уявленням про базові механізми агрегації тромбоцитів, здійснення яких неможливе без залучення фібриногену та фібрину.

Для визначення дії ВДК безпосередньо на процеси активації тромбоцитів вивчали процеси дегрануляції та зміни форми тромбоцитів за присутності ВДК шляхом вимірювання фронтального та ортогонального світлорозсіювання методом протокової цитометрії. Тромбоцити активували тромбіном і спостерігали їх повну активацію (до 95%) за 2 хв. За умов попередньої інкубації з 10 мкг/мл ВДК протягом 5, 20 та 30 хв частка тромбоцитів, проактивованих тромбіном за 2 хв, становила 79, 56 та 4% відповідно. Таким чином, ВДК достовірно пригнічував тромбініндуковану активацію тромбоцитів. Зниження частки активованих тромбоцитів за присутності ВДК спостерігали також і при активації ADP у збагаченій тромбоцитами плазмі крові. Це вказує на безпосередню дію ВДК на компоненти сигнальних каскадів, спрямованих на активацію тромбоцитів, що імовірно здійснюється завдяки здатності ВДК проникати через клітинну мембрану (Corbalan, 2012).

Таким чином, нами виявлена інгібувальна дія високодисперсних наночастинок діоксиду кремнію на процеси агрегації та активації тромбоцитів. Було показано, що дія ВДК на функціонування тромбоцитів здійснюється як завдяки сорбції ним фібриногену, так і шляхом порушення активації тромбоцитів.

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ КАЛІКС[4]АРЕНУ C-145 НА ПЛАЗМЕННИЙ ТА ТРОМБОЦИТАРНИЙ ГЕМОСТАЗ *IN VIVO*

¹ЧЕРНИШЕНКО В. О., ¹ЛУГОВСЬКА О. Е., ³ПАШЕВІН Д. О., ³ДОСЕНКО В. Є.,
²КАЛЬЧЕНКО В. І., ¹КОРОЛЬОВА Д. С., ¹ЛУГОВСЬКОЇ Е. В.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ;

³Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ;

e-mail: olya1994@yahoo.com

Раніше було показано, що калікс[4]арен-тетраметиленбісфосфонова кислота C-192 та її натрієва сіль C-145 є ефективними інгібіторами полімеризації фібрину *in vitro*. Безпосередньо взаємодіючи з сайтом полімеризації фібрину 'A', вони ефективно інгібують першу стадію полімеризації – формування протофібрил – IC₅₀ для C-192 становить 0,5·10⁻⁶ М для фібрину людини (Lugovskoi, 2012). Було показано, що C-145 є малотоксичною речовиною і може бути використаний для створення антитромботичного лікарського препарату. Метою подальшого дослідження властивостей калікс[4]аренів став аналіз їхньої дії на систему зсідання крові *in vivo*, зокрема на полімеризацію фібрину, та клітинний гемостаз лабораторних тварин за умов внутрішньовенного введення.

Для оцінки впливу калікс[4]аренів на стан системи гемостазу *in vivo* здоровим кролям внутрішньовенно вводили C-145 у фізіологічному розчині (натрієву сіль калікс[4]арену C-192, IC₅₀ = 4·10⁻⁶ М) у дозі 15 мг/кг маси тіла. Коагуляційні тести, активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ) та тромбіновий час (ТЧ), визначення рівня фібриногену та протромбіну, агрегатометрію та цитометрію тромбоцитів проводили через 2, 4, 24 та 48 год після введення калікс[4]арену.

Через 2 год спостерігали подовження часу зсідання плазми крові у тесті АЧТЧ втричі та у тесті ТЧ вдвічі, яке зберігалось таким протягом доби. Водночас, загальний рівень фібриногену та протромбіну лишався сталим. Достовірної зміни параметрів фібринолітичної системи (tPA та PAI-1) після введення калікс[4]арену також не спостерігалось. Ці дані дають підстави вважати, що дія калікс[4]арену на плазменний гемостаз обмежується інгібуванням полімеризації фібрину і, як наслідок, формуванням тривимірної сітки фібрину – основи тромбу.

Аналіз тромбоцитарної ланки системи гемостазу дозволив виявити цікавий феномен. Зокрема, в збагаченій тромбоцитами плазмі крові (ЗТПК) кроля вже за 2 год після введення калікс[4]арену не спостерігалась агрегація тромбоцитів, індукована ADP або колагеном. Методом протокової цитометрії показано перехід більшості тромбоцитів дослідного кроля (до 80%) у активований стан, який визначали за зміною форми та гранулярності тромбоцитів шляхом вимірювання фронтального та ортогонального світлорозсіювання ЗТПК. Здатність тромбоцитів агрегувати на рівні 10–20% відновлювалася лише через 48 год після введення калікс[4]арену. Кількість тромбоцитів у крові тварин знижувалася до 50 тис/мкл через 2 год після введення, через 48 год досягала 120 тис/мкл при нормі 190–200 тис/мкл.

Таким чином, показано ефективну антитромботичну дію калікс[4]арену C-145 *in vivo*, що полягає у прямому інгібуванні полімеризації фібрину та пригніченні функціонування тромбоцитарної ланки системи гемостазу.

ФЕРИТИН ЯК ПРОГНОСТИЧНИЙ ФАКТОР ПЕРЕБІГУ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

ЧЕХУН С. В., ЗАДВОРНИЙ Т. В., ЛУК'ЯНОВА Н. Ю.

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;
e-mail: chekhun@yahoo.com*

Результати численних клінічних спостережень свідчать про значну варіабельність відповіді на стандартну терапію хворих на рак молочної залози (РМЗ), що обумовлено значною гетерогенністю як клітин пухлинного пласту, так і їх молекулярного фенотипу. Зазначений факт зобов'язує дослідників поглиблювати вивчення особливостей біології пухлинної клітини. Нещодавно в літературі з'явилися дані, які свідчать про суттєву роль феритину (ФЕР) у виникненні та прогресії РМЗ. Виявлення нових ланок у патогенезі РМЗ дозволить ідентифікувати оптимальні параметри для об'єктивної оцінки клінічного стану хворого та відбору адекватних засобів для персоналізованої терапії. Мета роботи – дослідити рівень ФЕР у сироватці крові та пухлинній тканині хворих на РМЗ і проаналізувати залежність між показниками ФЕР та молекулярними підтипами РМЗ.

У дослідження залучено 150 жінок, хворих на РМЗ з II–III стадією за класифікацією TNM (6-те видання, 2002 р.); гістологічний тип пухлин верифіковано відповідно до класифікації BOO3 (2001 р.). Рівень ФЕР у сироватці крові визначали за допомогою методу твердофазного імуноензиматичного аналізу. Імуногістохімічне дослідження (ІГХ) ФЕР у пухлинних клітинах здійснювали на парафінових зрізах за стандартною методикою. Оцінку результатів ІГХ дослідження проводили за допомогою світлооптичної мікроскопії з використанням класичного методу H-score. Для статистичної обробки отриманих даних використано програму STATISTICA 6.0.

Встановлено, що рівні ФЕР у сироватці крові хворих на РМЗ люмінального А та В підтипів практично не перевищували показники норми ($157,6 \pm 22,1$ та $157,6 \pm 19,1$ нг/мл відповідно), в той час як у хворих із базальним підтипом пухлин рівень сироваткового ФЕР був значно вищим і становив $234,9 \pm 24,3$ нг/мл. За допомогою ІГХ методу показано, що 89,3% пухлин хворих на РМЗ базального підтипу характеризувались середнім та високим рівнем експресії ФЕР. У пухлинах люмінального підтипу низький та середній рівень експресії ФЕР визначено в 36,2% зразків. Найбільш високі показники сироваткового та пухлинного ФЕР спостерігали у хворих на протокову аденокарциному молочної залози базального підтипу ($297,8 \pm 16,1$ та $291,4 \pm 3,2$ відповідно).

Встановлено, що молекулярні підтипи РМЗ значно відрізняються за показниками ФЕР у сироватці крові та пухлинах. Показано, що зростання ФЕР на рівні пухлини та організму асоціюється з більш вираженою агресивністю РМЗ базального підтипу. Встановлені закономірності є підставою стверджувати, що показники ФЕР можуть бути використані як незалежні фактори прогнозу перебігу РМЗ.

ДИНАМІКА ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В ОРГАНАХ І ТКАНИНАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ АДРЕНАЛІНОВОГО СТРЕСУ

ШКУРАШІВСЬКА С. В., ЕРСТЕНЮК А. М.

Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;

Івано-Франківський коледж фізичного виховання, Україна;

e-mail: shkurashivskasvitlana@gmail.com

У студентів коледжів фізичного виховання та інших молодих людей, які активно займаються спортом, частим є психоемоційне навантаження, яке супроводжується виділенням адреналіну. На думку багатьох вчених, типовими проявами метаболічних порушень при дії адреналіну є зміни з боку показників ліпідного обміну. Нами проведено вивчення окремих показників ліпідного обміну в крові, печінці та м'язах щурів за умов адреналінового стресу.

В експерименті використано 40 білих щурів-самців та самок лінії Вістар масою 150–200 г. Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію. Для моделювання адреналінового стресу використовували одно- та дворазове введення 0,1% розчину адреналіну гідрохлориду з розрахунку 0,05 мг/кг маси тіла. Експериментальні тварини були розподілені наступним чином: I група – контрольні (інтактні); II група – тварини, у яких стрес спричинювали одноразовим введенням адреналіну в дозі 0,05 мг/кг маси тіла, забір матеріалу проводили через 30 хв.; III група – тварини, у яких стрес зумовлювали дворазовим введенням адреналіну в дозі 0,05 мг/кг маси тіла, забір матеріалу через 30 хв.; IV група – тварини, зі стресом, який змодельовано дворазовим введенням адреналіну в дозі 0,05 мг/кг маси тіла, забір матеріалу через – 24 год. Для оцінки ліпідного обміну визначали: рівень триацилгліцеролів (ТАГ) ензиматичним методом; концентрацію загального холестеролу (ХЛ), ензиматичним методом з використанням набору реактивів фірми «Вітал Diagnostik Спб». Гомогенат готували за допомогою гомогенізатора з використанням середовища для гомогенізації. Варіаційно-статистичний аналіз одержаних результатів проводився за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 7.0».

Результати проведеного нами дослідження показали, що через 30 хв за умов одноразового введення адреналіну спостерігалось зниження концентрації ТАГ у плазмі крові на 52,34% та у м'язах на 32,61%, водночас у печінці відмічено зростання на 32,55% порівняно з тваринами контрольної групи. За таких умов у піддослідних тварин нами відмічено зниження рівня ХЛ у плазмі крові на 50,38%, з одночасним підвищенням цього показника в печінці та м'язах відповідно на 61% та 56,44% порівняно до інтактних тварин. Дворазове введення адреналіну спричинювало, через 30 хв більш суттєве зниження концентрації ТАГ у плазмі крові, а саме на 67%, менш істотні зміни спостерігались порівняно з попередньою групою у м'язах та печінці. Вивчення рівня ХЛ у цих тварин показало іншу тенденцію, ніж після одноразового введення. Слід відмітити істотне зниження цього показника як у плазмі крові (на 44,22%), так і в печінці (на 65,84%) та м'язах (на 47,08%) порівняно з показниками контрольної групи тварин. За умов спостереження через 24 год після дворазового введення адреналіну нами відмічено наступні зміни ліпідного обміну: зниження рівня ТАГ у плазмі крові, печінці та м'язах на 56,28; 21,20 та 11,20% відповідно. Концентрація ХЛ мала тенденцію до зниження в плазмі крові на 39,70%, а у печінці на 24,88%, проте в м'язах спостерігалось підвищення на 39,85% порівняно з тваринами контрольної групи.

Проведені дослідження показали, що введення щурам адреналіну (0,05 мг/кг маси тіла) призводить до ліпідного дисбалансу, який має різний характер змін у печінці, м'язах, крові та залежить від кратності введення і терміну спостереження. Отримані результати потребують подальшого вивчення метаболічних порушень, які виникають за дії адреналіну.

ВПЛИВ МЕДИЧНИХ ГРИБІВ НА СТРУКТУРУ ВУГЛЕВОДНИХ ДЕТЕРМІНАНТ МЕМБРАННИХ ГЛІКОКОН'ЮГАТИВ ТА АПОПТОЗ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ЮРКІВ Б. І., ВАСЦЕР С. П., НЕВО Е.

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
Інститут еволюції Хайфського університету, Ізраїль;
e-mail: 5bariska5@gmail.com*

Медичні гриби (МГ) мають довгу історію використання для лікування захворювань в народній медицині. Вони проявляють терапевтичну дію проти розвитку багатьох захворювань, в першу чергу тому, що вони містять ряд біологічно активних сполук. Таким чином, природні протидіабетичні препарати з МГ привертають велику увагу

Глікокалікс клітинної мембрани є однією з найважливіших систем, що забезпечує життєдіяльність клітини. Термінальним вуглеводним залишкам олігосахаридних ланцюгів мембранних глікокон'югатів належить провідна роль у міжклітинних взаємодіях, які є вирішальними в процесі функціонування та загибелі клітин. Метаболічні зміни, які відбуваються в організмі на фоні тривалої гіперглікемії, зумовлюють зміни у структурі чи кількості вуглеводних детермінант поверхневих глікокон'югатів мембран лейкоцитів, підвищуючи їхні адгезивні властивості та сприяють апоптичним процесам. Важливе значення у цих процесах відіграють залишки сіалових кислот. Зміни у морфофункціональному стані клітин крові призводять до порушення їх взаємодії з ендотелієм судин та є етіологічною передумовою розвитку діабетичних мікроангіопатій. Мета роботи полягала у дослідженні перерозподілу сіалових кислот у складі поверхневих глікокон'югатів мембран лейкоцитів та процесу апоптозу лейкоцитів за умов ЕЦД у щурів на фоні введення препаратів медичних грибів *Agaricus brasiliensis* та *Ganoderma lucidum* у дозі 1 г/кг маси тіла.

Функціональний стан лейкоцитів оцінювали методом лектиніндукованої агрегації, а також проводили лектинофенотипування цих клітин крові на мікропланшетному спектрофотометрі (BioTek, США), використовуючи біотинільзовані лектини. Як індуктори агрегації використовували лектини WGA, SNA, MAA, RCA, PNA та NPL. Вміст сіалових кислот визначали методом Ворена. Виявлення ранніх проявів апоптозу лейкоцитів проводили візуально за допомогою світлової мікроскопії, оцінюючи морфологічні ознаки апоптозу, а також здійснювали імуноцитохімічну детекцію вмісту проапоптичного протеїну p53 та антиапоптичного протеїну Bcl-2. Для кількісної оцінки вмісту апоптотичних клітин розраховували апоптотичний індекс (AI).

Виявлені нами зміни у показниках агрегації у разі введення пудри грибів тваринам із ЕЦД можуть свідчити про зміну кількості або перебудови у структурі вуглеводних детермінант сіаловмісних рецепторів. Ці зміни забезпечують нормалізацію функціонального стану лейкоцитів. Також нами встановлено, що дія медичних грибів за цукрового діабету спрямована на нормалізацію співвідношення лейкоцитів, що містять про- (p53) і антиапоптичний (Bcl-2) протеїни, а також на зниження AI, що свідчить про пригнічуючий вплив грибів на генетично запрограмовану загибель досліджуваних клітин.

ВПЛИВ НОВИХ ПОХІДНИХ КСАНТИНУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ІШЕМІЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ КАРДІОМІОЦИТІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

*ЮРЧЕНКО Д. М., АЛЕКСАНДРОВА К. В., ЛЕВІЧ С. В., ДЯЧКОВ М. В.,
НОСАЧ С. Г., КРІСАНОВА Н. В., РУДЬКО Н. П.*

*Запорізький державний медичний університет, Україна;
e-mail: darja.yurchenko@yandex.ua*

Метою роботи стало продовження пошуку біологічно активних сполук із кардіопротективною дією серед 3-арил(аралкіл)ксантинів, що мають антиоксидантні властивості, які є перспективними для лікування патологій серцево-судинної системи.

Вперше синтезовані на кафедрі біохімії та лабораторної діагностики сполуки – похідні 3-R-ксантину, пройшли фармакологічний скринінг *in vitro*. З метою виявлення антиоксидантів (згідно прогнозу програми PASSonline) використано 3 методи. Для подальших досліджень за результатами *in vitro* були відібрані 3 сполуки, кардіопротективна дія яких вивчалась на модельній патології (експериментальний гострий інфаркт міокарда).

Досліди виконувались на 50 щурах лінії Вістар масою 190–210 г. Інфаркт міокарда моделювали поетапним введенням ізадрину та пітуїтрину. Кардіопротективну активність сполук оцінювали за зниженням біохімічних маркерів ішемічного пошкодження та оксидативного стресу. Досліджувані речовини вводили у вигляді суспензії з Твіном-80, в/о. Еталоном порівняння був мілдронат. Для оцінки інтенсивності вільнорадикального окислення у міокарді виявляли маркери окислювальної модифікації протеїну (ОМП). Показники ОМП визначались за методом В. Halliwell, за взаємодією окислених амінокислотних залишків із 2,4-динітрофенілгідразоном за утворенням альдегідфенілгідразонів (АФГ) та кетондинітрофенілгідразонів (КФГ), що мають максимум поглинання при 274 та 363 нм відповідно. Про ішемічні пошкодження міокарда судили за гіперферментемією серцевого ізоензиму креатинфосфокінази (МВ-КФК). Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю ряду ензимів. Стан вуглецево-енергетичного обміну досліджували за рівнем найбільш вагомих інтермедіатів – АТР, АДФ, АМР, лактату, пірувату, малату. За продукцією, метаболізмом та транспортом NO судили за активністю NO-синтази (NOS) та нітратів.

На моделі інфаркту міокарда показано пригнічення процесів синтезу нітроген оксиду, який виконує в умовах ішемії міокарда роль ендотеліопротективного та кардіопротективного факторів. Про це свідчило зниження активності NO-синтази, зниження продукції нітратів – стабільних метаболітів NO, на тлі наявного дефіциту субстрату синтезу нітроген оксиду – L-аргініну. Було виявлено, що синтезовані речовини підвищують активність NO-синтази та збільшують продукцію NO, про що свідчило зростання вмісту нітратів.

Внаслідок експериментального гострого інфаркту міокарда виникало ішемічне порушення енергетичного метаболізму кардіоміоцитів – активації гліколізу, дискоординації в циклі Кребса та до дефіциту макроергічних фосфатів. Призначення тваринам досліджуваних сполук призводило до посилення продукції АТР на фоні підвищення рівня АДФ та зниження АМР. При цьому підвищувалась енергопродукція в ішемізованому міокарді за рахунок інтенсифікації аеробних процесів або компенсаторних шунтів енергії. Досліджувані сполуки обмежували активність анаеробного гліколізу за ішемії та зменшували прояви метаболічного лактат-ацидозу, про що свідчить зниження рівня лактату в цитоплазмі міокарда. Введення сполук тваринам надавало значний антиоксидантний ефект, що проявлялося у підвищенні активності СОД та ГПР, а також у зниженні маркерних продуктів ОМП у цитозолі міокарда. Таким чином, синтезовані похідні 3-арил(аралкіл)ксантину є перспективними кардіопротекторами, активність яких перевищує мілдронат.

ЗБУДЛИВІ ТА ГАЛЬМІВНІ АМІНОКИСЛОТИ («КОЕФІЦІЄНТ ЗБУДЖЕННЯ») І ПОРОГИ СУДОМНОЇ РЕАКЦІЇ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗКУ

ЯКИМЕНКО Т. І.

*Харківська державна зооветеринарна академія МАП України;
e-mail: tatyanka.yakimenko@mail.ru*

Останнім часом значно зріс рівень антропогенного забруднення середовища людини і тварин. В науковій літературі накопичено великий фактичний матеріал, що свідчить про несприятливий вплив шуму на багато органів, систем, їх функції, і, в першу чергу, на стан центральної нервової системи. Нормальне функціонування останньої забезпечується багатьма чинниками, зокрема взаємодією медіаторів, одні з яких мають збуджуючу, інші – гальмівну дію. Вивчення співвідношення збудливих амінокислот (аспарагінової кислоти, глутамінової кислоти) до гальмівних (гліцину, таурину), а також порогу виникнення судомної реакції структур головного мозку, як показника рівня збудливості і є метою цієї роботи.

Вивчення вмісту амінокислот у структурах головного мозку та порогів виникнення судомної реакції структур головного мозку проводилося на статевозрілих самцях щура популяції Вістар, масою 180–220 г, розділених на дві групи: низько- і високозбудливих тварин – по їх реакції на аудіогенний подразник (електричний дзвоник силою 96 дБА). Для поглибленого вивчення і конкретизації ролі медіаторних амінокислот у генезі судомної активності головного мозку був проведений математичний аналіз із підрахунком коефіцієнта співвідношення суми збуджуючих і суми гальмівних амінокислот («коефіцієнт збудження»).

Виявлено, що в дорзальному гіпокампі високозбудливих щурів поріг виникнення судомних реакцій нижчий, як і рівня вмісту збуджуючих амінокислот і гліцину, але підвищений вміст таурину. Зниження порогів виникнення судомної активності пов'язане з підвищенням «коефіцієнта збудження» в таких структурах стовбура як чорна субстанція і ядра шва. Одержані дані свідчать про те, що пороги виникнення судомних реакцій у високозбудливих тварин як в лімбічних структурах, так і в структурах стовбура головного мозку пропорційно залежать від підвищення або зниження рівня глутамінової кислоти в цих утвореннях. У структурах стовбура головного мозку у високозбудливих тварин як пороги виникнення судомних реакцій, так і рівні вмісту медіаторних амінокислот мають тенденцію до зниження в порівнянні з низькозбудливими тваринами. У високозбудливих тварин знижені пороги виникнення судомних реакцій в структурах головного мозку, де розташовані основні моноамінергічні нейрони. Можна припустити, що це пов'язано зі зниженням в цих утвореннях ретикуло-лімбічної системи гальмівних ефектів, що реалізуються через гліцин і таурин (блакитнувата пляма і чорна субстанція) або тільки через гліцин (ядра шва).

Внаслідок підвищення активності основних моноамінергічних елементів (нейронів) і їх шляхів, можна припустити більш інтенсивне виділення відповідних медіаторів у місцях їх проєкцій, зокрема у лімбічних структурах (гіпокампі, мигдалеподібному комплексі, неокортексі, прозорій перетинці). Можливо, це носить компенсаторний характер у відповідь на зміну нейрохімічної ситуації в структурах мозку з найнижчими порогамі виникнення судомних реакцій (лімбічні утворення). Саме в них виявлено зниження вмісту гліцину (гіпокамп) і таурину (мигдалеподібний комплекс).

Можна зробити висновки, що у високозбудливих тварин зниження порогу виникнення судомних реакцій структур головного мозку є результатом шумової дії та, що окремі індивідууми є більш сприйнятливішими до шумового стресу, і складають «групу ризику» щодо розвитку у них судомної активності головного мозку, яка надалі може розвинути в судомний припадок.

**NO-СИНТАЗНА СИСТЕМА ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ В НОРМІ
ТА ПРИ РОЗВИТКУ РАКУ ЯЄЧНИКА***ЯКУБЕЦЬ О. І., ВОРОБЕЦЬ Д. З., ВОРОБЕЦЬ З. Д.**Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua*

Основною причиною смертності серед хворих на злоякісні новоутворення жіночих статевих органів є рак яєчника (РЯ). Особливе значення у виникненні та розвитку пухлинного процесу належить порушенню регуляторних механізмів клітини. Вивчення механізмів розвитку раку РЯ та пошук прогностичних маркерів із метою оптимізації діагностики та лікування хворих є актуальною проблемою. Одним із найбільш доступних об'єктів досліджень при цій патології є лімфоцити периферичної крові, які є ключовими клітинами імунної системи та забезпечують компенсаторно-приспосувальні реакції в організмі. Вважається, що пухлини виникають в результаті відповідних мутацій і порушень метаболічних і регуляторних систем клітини. У цьому плані актуальним є вивчення аргіназа/NO-синтазного шляху обміну L-аргініну, який відіграє важливу роль у розвитку патологічних процесів, зокрема неопластичних. Синтез NO, як вторинного месенджера, здійснюється за участі ензиму NO-синтази, субстратом для якої є L-аргінін, однак ця амінокислота є субстратом і для аргінази. L-аргінін також є важливим субстратом для пухлинного росту. Метою даної роботи було дослідження активності аргінази та NO-синтаз при раку яєчника.

Лімфоцити периферичної крові виділяли з свіжоотриманої гепаринізованої крові хворих на рак яєчника та клінічно здорових жінок. Показано, що активність аргінази лімфоцитів практично здорових людей становить $106,0 \pm 6,7$ нмоль сечовини/хв·мг протеїну. У хворих на РЯ ця активність зростає в 3,8 раза. Активність eNO-синтази лімфоцитів крові практично здорових осіб становить $74,60 \pm 6,38$ нмоль NADPH(H⁺)/хв·мг протеїну, а активність iNOS лімфоцитів крові здорових осіб практично не ідентифікується. У лімфоцитах крові пацієнток із РЯ активність eNO-синтази знижується в 4,1 раза. На фоні інгібування eNO-синтази у лімфоцитах крові пацієнток із РЯ спостерігається різке зростання активності iNO-синтази.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що має місце достовірне зростання активності аргінази та iNOS і зміна їх кінетичних характеристик у лімфоцитах периферичної крові хворих на рак яєчника жінок.

**IV. БІОТЕХНОЛОГІЯ
І НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯ.
БІОБЕЗПЕКА**

ДОПОВІДІ

МЕТАБОЛИТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ
ПОЧВЕННЫХ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

БЕЛЯВСКАЯ Л. А., КОЗЫРИЦКАЯ В. Е., ИУТИНСКАЯ Г. А.

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного
НАН Украины, Киев;
e-mail: bilyuvskal@gmail.com*

Актуальным и перспективным направлением биотехнологии является создание на основе экологически безопасных микробных метаболитов биопрепаратов для медицины, сельского хозяйства, охраны окружающей среды. Метаболитные препараты находят широкое применение в растениеводстве как биопестициды, иммуномодуляторы, регуляторы роста и развития растений.

Почвенные актинобактерии (в т.ч. стрептомицеты) являются перспективными объектами биотехнологии, поскольку синтезируют антибиотики разной химической природы и широкий спектр биологически активных веществ. В результате таргетного скрининга изолятов почвенных стрептомицетов нами были селекционированы штаммы *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179, *S. netropsis* УКМ Ас-2186 и *S. violaceus* УКМ Ас-2191 – активные антагонисты паразитических нематод растений, фитопатогенных бактерий и грибов. Целью данной работы было биохимическое исследование комплекса метаболитов, синтезируемых указанными выше штаммами стрептомицетов. Выявлена их способность синтезировать антибиотики разной химической природы: *S. avermitilis* УКМ Ас-2179 синтезирует макролидный антибиотик авермектин, *S. netropsis* УКМ Ас-2186 и *S. violaceus* УКМ Ас-2191 – полиеновые антибиотики.

В метаболитах исследуемых штаммов выявлены также биологически активные вещества, оказывающие влияние на рост и развитие растений, в частности, фитогормоны. В составе последних присутствовали ауксины, цитокинины, гиббереллины и стероидные гормоны. Содержание отдельных фитогормонов в биомассе стрептомицетов составляло (мкг/г сухой биомассы): индолилуксусная кислота – $1,1 \div 64,3$, изопентиладенин – $0,8 \div 165,7$, зеатин – $0,2 \div 32,9$, зеатинрибозид – $1,0 \div 129,6$, гибберелловая кислота – $4,5 \div 23,1$, 24-эпибрассинолид $268,2 \div 345,0$, эргостерол $11,0 \div 93,4$ и холестерол $106,9 \div 191,6$. Идентифицирован спектр липидов, выделенных из биомассы исследуемых стрептомицетов; преобладающими были такие биологически активные фракции как стерины (до 34%) и фосфолипиды (до 22%). В спектре жирных кислот биомассы культур преобладали линолевая (до 12%) и олеиновая (до 9%). Обнаружена также полиненасыщенная арахидоновая кислота – биогенный элиситор, вызывающий индуцированную системную устойчивость растений к фитопатогенам. В составе метаболитных комплексов, синтезируемых указанными выше продуцентами выявлены витамины группы В (пиридоксин, тиамин, биотин) и аминокислоты, среди которых отдельные незаменимые аминокислоты (лизин, треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, триптофан) по процентному содержанию превосходили «идеальный» протеин.

Исследования на зерновых (яровая пшеница), овощных (огурцы, томаты) и технических (картофель) культурах, проведенные в лабораторных, вегетационных и полевых опытах показали, что препараты на основе метаболитных комплексов стрептомицетов *S. avermitilis* УКМ Ас-2179, *S. netropsis* УКМ Ас-2186 и *S. violaceus* УКМ Ас-2191 характеризуются многофункциональным действием – снижают уровень поражения нематодами, повышают резистентность к фитопатогенным бактериям и грибам, стимулируют рост и развитие растений, что способствует повышению урожая и улучшению его качества.

Разработанные препараты экологически безопасны, не оказывают токсического действия на нецелевые объекты: почвенные микроорганизмы, растения и теплокровные организмы.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *Enterobacteriaceae*

ВАРБАНЕЦ Л. Д.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного

НАН Украины, Киев;

e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua

Способность липополисахаридов (ЛПС) проявлять широкий спектр биологической активности, в частности являться основными антигенами бактериальной клетки, играть ключевую роль в процессах межклеточного узнавания, определять иммуноспецифичность микробных клеток, использоваться в качестве компонентов вакцин, адъювантов, противоопухолевых препаратов, неспецифических стимуляторов, а также в таксономии грамотрицательных бактерий, обуславливает неослабевающий интерес исследователей к изучению их структуры и функции. Несмотря на то, что *Enterobacteriaceae* представляет семейство микроорганизмов, которые наиболее изучены как фенотипически, так и генотипически, тем не менее его систематика и на сегодняшний день продолжает изменяться и усовершенствоваться. Поэтому целью работы было химически идентифицировать, установить структуру, а также изучить функциональную и биологическую роль ЛПС представителей ранее не изученных видов, таких как *Pragia fontium*, *Budvicia aquatica*, *Pantoea agglomerans*, а также ряда штаммов *Escherichia coli*. Так, установлено, что структура О-специфического полисахарида (ОПС) *P. fontium* 97U116 представлена линейным пентасахаридом, который включает один остаток галактофуранозы, два остатка рамнопиранозы, один из которых О-ацетилированный, и два остатка N-ацетилглюкозамина в разной конфигурации – α и β . Структура повторяющегося звена ОПС другого штамма *P. fontium* 27480 принципиально отличается. Она также является линейной, однако представлена не пента-, а тетрасахаридом, который включает два остатка рамнозы в α - и β -конфигурации, один остаток N-ацетилглюкозамина и необычный моносахарид – диацетаминодидезоксиманнуриновую кислоту. Еще более необычной оказалась структура ОПС третьего штамма *P. fontium* 97U124, которая представлена трисахаридом, включающим 2 остатка N-ацетилфурозамина и новое производное бациллозамина – 2,4-диамино-2,4,6-тридезоксиглюкозу. Особенностью этого полисахарида является впервые установленное присутствие глицероильного производного бациллозамина. Структура ОПС типового штамма *B. aquatica* DLR20186 представляет собой линейный тетрасахарид, особенностью которого является наличие такого моносахарида как йерсиниоза А, редко встречающаяся в ОПС грамотрицательных бактерий. Поскольку структуры ОПС являются химической основой создания внутривидовых классификационных схем грамотрицательных бактерий, нами было проведено серотипирование исследуемых штаммов. Показана иммунохимическая гетерогенность видов *P. fontium*, *B. aquatica* и *P. agglomerans*. Для чего изучаются структуры ЛПС? Ранее исследователи пытались на основе природных полисахаридов создать вакцины против возбудителей инфекционных заболеваний. Однако эти работы не были успешными, поскольку очень ограничено количество чистых полисахаридов природного происхождения. Поэтому в настоящее время развивается новое, очень важное направление медицинских исследований – создание гликоконъюгатных вакцин с использованием химически синтезированных олигосахаридов. На основе установленной нами ранее структуры ОПС *Rahnella aquatilis* индийские исследователи осуществили химический синтез разветвленного трисахаридного олигосахаридов и на его основе конструируют гликоконъюгатную вакцину, которая будет использована для борьбы с возбудителями инфекционных заболеваний.

TUMOR-ASSOCIATED AUTOANTIGENS AND THEIR COGNATE AUTOANTIBODIES AS MOLECULAR MARKERS FOR BREAST CANCER DIAGNOSTICS

KIYAMOVA R. G., KOSTIANETS O. I., FILONENKO V. V.

*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: r.g.kiyamova@imbg.org.ua*

Over the last few years emerging evidence suggests that tumor-associated antigens (TAAs) and their cognate autoantibodies serve as molecular markers of human malignancy. The principle of the immunological detection of molecular changes in tumor cells by autoantibodies which was the main conception of this work allowed us to identify 41 autoantigens from medullary breast carcinoma (MBC) tumor by modified SEREX (serological analysis of recombinant tumor cDNA expression libraries) approach. Preliminary phage based allogenic screening followed by large-scale ELISA based allogenic screening of MBC antigens with sera of breast cancer patients of different histological grades revealed 6 TAAs with highest immunogenicity in sera of breast cancer patients compared with sera of healthy individuals. Combination of these 6 TAAs in a single panel may differentiate cancer patients and healthy individuals with 70% of sensitivity and 91% specificity.

This panel of 6 TAAs can be considered as the base for creating of serological test-system for non-invasive breast cancer diagnostics. To increase the sensitivity of the 6 TAA panel analysis immunogenicity of additional TAA in sera of breast cancer patients is currently in progress.

КОРОТКОЧАСНИЙ ВПЛИВ МЕТРИБУЗИНУ НА ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ПЕЧІНЦІ КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО (*Carassius auratus* L.)

МАКСИМІВ І. В., МОСІЙЧУК Н. М., ГУСАК В. В.

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

У сучасному світі пестициди відіграють ключову роль в зростанні врожаїв, однак їх широке використання, особливо поряд із водоймами, являє собою загрозу екологічного дисбалансу водних екосистем. Тριαзинвмісні гербіциди, зокрема метрибузин, має шкідливий вплив на живі організми, особливо риб, які займають верхній трофічний рівень. Відомо, що метрибузин спричинює порушення обміну речовин, і має гепатотоксичну дію в багатьох живих організмах, оскільки саме печінка є основним органом детоксикації та розщеплення ксенобіотиків. Тим не менш, його токсичність для риб залишається недостатньо дослідженою. Дане дослідження було виконане для того, щоб дослідити ефекти впливу препарату «Зенкор» (7,14; 35,7 і 71,4 мг/л) протягом 96 год на показники оксидативного стресу та антиоксидантної системи у печінці карася сріблястого (*Carassius auratus* L.).

Спершу риб акліматизували до лабораторних умов, а потім групами по сім риб переносили в акваріуми з різними концентраціями гербіциду Зенкор (Байер, Німеччина): 7,14; 35,7 або 71,4 мг/л, що відповідає 5, 25 або 50 мг/л метрибузину, відповідно на 96 годин. Риби в контрольній групі були перенесені в акваріум без додавання гербіциду. Після експозиції риби були швидко вбиті перерізанням спинного мозку без анестезії. Швидко забирали тканину печінки, промивали в охолодженому льодом 0,9% NaCl, сушили за допомогою фільтрувального паперу, заморожували і зберігали в рідкому азоті до використання. Вміст пероксидів ліпідів визначали за реакцією з ксиленолом оранжевим. Активність антиоксидантних ензимів вимірювали загальними методами.

Зенкор за найвищих обраних концентрацій 35,7 і 71,4 мг/л спричиняв збільшення рівня пероксидів ліпідів у печінці (на 50–75%). Вміст низькомолекулярних тіолових груп у печінці карася сріблястого також знижувалась за концентрації 71,4 мг/л препарату. Активність супероксиддисмутази у печінці карася сріблястого зростала на 56% за концентрації гербіциду 35,7 мг/л, проте активність каталази знижувалась (26%) за найвищої обраної концентрації 71,4 мг/л. У риб, експонованих до концентрацій препарату 35,7 і 71,4 мг/л знижувалась активність глутатіон пероксидази у печінці на 25 та 23% відповідно. Експозиція риб до концентрацій 7,14 та 71,4 мг/л Зенкору спричиняла збільшення активності глутатіон-S-трансферази на 24%. Активність глутатіон редуктази знижувалась після обробки риб всіма концентраціями гербіциду на 44%.

Отже, короткочасна дія метрибузину за обраних концентрацій призводила до зниження антиоксидантного статусу та, ймовірно, до виникнення оксидативного стресу в печінці карася сріблястого.

DEVELOPMENT OF SEMI-FABRICATED BIOARTIFICIAL TISSUE EQUIVALENTS ON THE BASE OF MESENCHYMAL STEM CELLS

¹PETRENKO A. Yu., ¹PETRENKO Yu. A., ¹ROGULSKAYA E. Yu., ¹MUTSENKO V. V.,
¹ZAIKOV V. S., ²LOZINSKY V. I., ³KATSEN-GLOBA A., ³ZIMMERMANN H.,
⁴EHRlich H., ¹MAZUR S. P.

¹*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kharkov;*

²*A. N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian
Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;*

³*Fraunhofer Institute for Biomedical Engineering, Ingbert, Germany;*

⁴*Institute of Experimental Physics, TU Bergakademie Freiberg, Germany;
e-mail address: alexander_petrenko@cryo.org.ua*

Mesenchymal stem cells (MSCs) with their potential to differentiate in various cell types, cryopreserved in fabricated scaffolds of biocompatible materials can serve as ready-to-use transplantation units for tissue engineering.

The aim of the study was examination of viability, metabolic activity, proliferation and ability to multilineage differentiation of MSCs within alginate microspheres and porous scaffolds before and after cryopreservation. As porous scaffolds alginate-, collagen-, chitosan- gelatin-based matrix and modified skeletons of marine sponges were used.

MSCs isolated from different adult human tissues (bone marrow, dermal and adipose tissues) had similar phenotype and growth patterns as well as ability to induced multilineage differentiation. However, differentiation efficiency depended upon the source of cells: the highest ability to bone formation demonstrated MSCs derived from bone marrow, whereas to fat one – from adipose tissue.

Screening of properties of wide family of porous matrix showed that the most promising for application in tissue engineering were alginate-, collagen-, gelatin-based cryogels and purified skeletons of marine sponges. Seeded into these scaffolds MSCs attached to pore surfaces, spread, proliferated and migrated filling sponge bulks. MSCs seeded into porous scaffolds may be successfully cryopreserved using conventional protocol included step-wise freezing in the presence penetrative cryoprotectant dimethylsulfoxide. The efficacy of cryopreservation procedure depended on the degree of cell spreading and could be modulated by the time of cell attachment to pore surface.

Another promising approach for tissue repair is injectable microspheres with encapsulated cells. After encapsulation into alginate microspheres MSCs remained their spherical shape, had reduced metabolic activity and did not proliferate. Encapsulated MSCs were successfully cryopreserved using both conventional cryopreservation and vitrification protocols. After cryopreservation and following monolayer culture MSCs restored their metabolic and proliferative activities and capacity to multilineage differentiation.

Obtained results provide new information to enhance the fabrication and to store ready-to-use transplantation units for application in bone, cartilage or skin repair.

ЛИЗОЦИМСОДЕРЖАЩИЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МУКОАДГЕЗИВНЫЕ ПЛЕНКИ

¹РОМАНОВСКАЯ И. И., ¹ДЕКИНА С. С., ¹ОВСЕПЯН А. М., ²ЛЕВИЦКИЙ А. П.

¹Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, Одесса;

²ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса;

e-mail: romairina@gmail.com

Гидролитический фермент лизоцим (КФ 3.2.1.17), обладая выраженным бактериолитическим, противовоспалительным, иммунокорректирующим действием, широко применяется при лечении хронических септических состояний и гнойных процессов, афтозных стоматитов и других инфекционных заболеваний. Отсутствие стабильных лекарственных форм фермента для использования в стоматологии стимулирует исследования в области методов его иммобилизации для получения перспективных мукоадгезивных форм. Цель работы – разработка метода иммобилизации лизоцима в полимерную матрицу на основе желатина и Na-КМЦ, исследование физико-химических и биологических особенностей функционирования полученного препарата.

В исследованиях использовали лизоцим яичного протеина (ApplyChem, Бельгия), желатин (ГОСТ 11253-89), натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) (Акуселл АF 3265, Россия). Активность фермента определяли бактериолитическим методом, используя в качестве субстрата ацетоновый порошок *Micrococcus lysodeikticus* (штамм 2665), содержание протеина контролировали методом М. Bradford. Биологическую активность мукоадгезивных полимерных пленок с лизоцимом исследовали на 24-х крысах линии Вистар, определяя влияние препарата на развитие воспалительных процессов в слизистой оболочке полости рта после моделирования стоматита пчелиным ядом.

Методом нековалентной иммобилизации лизоцима в полимерную матрицу получены полимерные пленки пролонгированного действия с высокой гидролитической активностью (4000 ± 200 ед./мг), с 100%-ым ее сохранением на протяжении 2 лет (0–4 °С), стабильные к стерилизации гамма-облучением, с расширенным рН-оптимумом активности фермента в область кислых (на 0,5 ед.) и щелочных (на 1,0 ед.) значений. Препарат обладает выраженным бактерицидным действием в отношении тест-штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 F-49 и бактериостатическим в отношении штаммов *Pseudomonas aeruginosa* 415, *Escherichia coli* 055 K59912/4, *Candida albicans* ATCC 885-653.

Снижение значений маркеров воспаления (активности эластазы и концентрации малонового диальдегида на 63,2 и 80,9% соответственно), уровня микробной обсемененности (активности уреазы на 97,5%), увеличение активности лизоцима в слизистой оболочке щеки крыс подтверждают эффективность противовоспалительного и антимикробного действия при лечении моделированного экспериментального стоматита.

Таким образом, разработаны мукоадгезивные полимерные пленки с иммобилизованным лизоцимом, изучены их биохимические и физико-химические свойства, показана перспективность их использования в стоматологии.

**БИОКАТАЛИЗАТОРЫ ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНОГО
ГИДРОЛИЗА ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-БЕНЗДИАЗЕПИНА**

*РОМАНОВСКАЯ И. И., ШЕСТЕРЕНКО Е. А., СЕВАСТЬЯНОВ О. В.,
ПАВЛОВСКИЙ В. И., АНДРОНАТИ С. А.*

*Физико-химический институт им. А. В. Богатского
НАН Украины, Одесса;
e-mail: romairina@gmail.com*

Ранее нами был разработан способ получения S-энантиомеров сложных эфиров 3-гидрокси-7-бром-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она – потенциальных анксиолитических и снотворных средств – с помощью карбоксилэстеразы в составе микросомальной фракции печени свиньи (МФ), изучены их кристаллическая и молекулярная структуры, показано, что S-энантиомеры обладают в 1,5–2,1 раза большим аффинитетом к центральным бенздиазепиновым рецепторам, чем рацематы. Цель настоящего исследования – сравнительное изучение свойств биокатализаторов энантиоселективного гидролиза 3-ацетокси-7-бром-1-метил-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она на основе иммобилизованной микросомальной фракции печени свиньи.

Для иммобилизации МФ применили метод нековалентного связывания (включения в гель) с полимерными матрицами синтетического (криогель поливинилового спирта) и природного происхождения (филлофорин из черноморской водоросли *Phyllophora nervosa* и альгинат натрия). Разработан способ иммобилизации МФ в криогеле поливинилового спирта, получен продукт (I) в пленочной форме с 65%-ым сохранением эстеразной активности, стабильный при хранении (3 мес). В результате иммобилизации МФ в филлофорин и альгинат натрия, модифицированные Ca^{2+} , получены продукты (II, III) с 80 и 70%-ым сохранением исходной эстеразной активности, увеличенным сроком хранения (9 и 6 мес. соответственно), в технологичной форме гранул. Полученные биопродукты не обладали отличиями в pH- и температурном оптимумах эстеразной активности по сравнению со свободной МФ, однако характеризовались увеличенной термостабильностью: константы термоинактивации МФ, иммобилизованной в криогеле ПВС, модифицированных филлофорине и альгинате уменьшались в 1,7–3 раза, соответственно и отличались отсутствием растворимости в водно-органических средах. С помощью разработанных биокатализаторов (I, II, III) осуществлен энантиоселективный гидролиз 3-ацетокси-7-бром-1-метил-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она (эстеразная активность 100–150 ед/см³; концентрация субстрата 0,5 ммоль; pH 7,0; t = 37 °C; T 2,5 час; 0,0167 M Na-фосфатный буфер/ДМСО – 40%, об/об 3:2) с 50% степенью трансформации на протяжении 5–12 циклов, соответственно, в периодическом режиме.

Таким образом, в результате иммобилизации МФ на полимерных носителях получены биокатализаторы энантиоселективного гидролиза 3-ацетокси-7-бром-1-метил-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она. Более перспективным для энантиоселективного гидролиза сложных эфиров 3-гидрокси-7-бром-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она является биокатализатор III, обладающий высокой эстеразной активностью и многоразовостью использования в реакторе периодического действия – 12 циклов без снижения степени гидролиза исследуемого субстрата.

ПОЗАКЛІТИННІ ЦЕЛЮЛАЗИ ТА КСИЛАЗИ РІЗНИХ ВИДІВ МІКРОМІЦЕТІВ

*СИРЧІН С. О., ХАРКЕВИЧ О. С., ПАВЛИЧЕНКО А. К., ЮР'ЄВА О. М.,
НАКОНЕЧНА Л. Т., ПАСІК Ю. С., КУРЧЕНКО І. М.*

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, Київ;
e-mail: syrchin@ukr.net*

Целюлази широко застосовуються для покращення якості кормів у тваринництві та для виробництва біоетанолу другого покоління. Розробка нових біотехнологій на основі використання комплексів позаклітинних целюлаз та ксиланаз мікроміцетів з високою активністю до природної лігноцелюлозної біомаси є актуальною. Метою роботи було дослідження целюлозо- та ксиланолітичної активності у мікроміцетів для трансформації рослинних субстратів.

У роботі були використані штами *Trichoderma* sp. 17/1, *Fusarium* sp. 5 і *Fennellia* sp. 2806, відібрані в результаті попереднього скринінгу. Мікроміцети вирощували в умовах глибинного культивування на поживних середовищах, в яких єдиним джерелом вуглецю були: фільтрувальний папір (ФП, контроль); натрієва сіль карбоксиметилцелюлози (NaКМЦ); природний субстрат – пшенична солома. Ендоглюканазну активність визначали віскозиметричним методом, екзоглюканазну та ксиланазну – з використанням ДНС-реактиву. Отримані дані опрацьовані статистично за допомогою програми MiniTab 15.

Синтез мікроміцетами позаклітинних целюлаз мав коливальний характер, обумовлений тонко регульованими механізмами індукції-репресії зі зростанням активності до 4-ої доби культивування, подальшим падінням на 5-ту і наступним зростанням на 6 та 7 доби. На контрольному середовищі ендоглюканазна активність була найвищою у *Fusarium* sp. (10–12 од./мл), вдвічі нижчою у *Trichoderma* sp., у *Fennellia* sp. становила лише 1–2 од./мл. Екзоглюканазна активність у досліджених штамів була незначною – 0,2 од./мл у *Trichoderma* sp. та на порядок нижчою у інших штамів. Ксиланазна активність у *Trichoderma* sp. досягала 40–45 од./мл, в той час як у *Fennellia* sp. – лише 5 од./мл, а у *Fusarium* sp. – була відсутня. У разі внесення в поживне середовище з ФП відомих індукторів синтезу целюлаз – лактози або сорбітолу (Ivanova et al., 2013), у *Trichoderma* sp. спостерігали зниження ендоглюканазної активності в 2,6–3,7 рази, практично повне інгібування екзоглюканазної активності та ксиланазної – за додавання сорбітолу. У *Fusarium* sp. і *Fennellia* sp. за цих умов жодна із зазначених активностей не виявлена.

Використання NaКМЦ призводило до зростання вдвічі ендоглюканазної активності у *Fennellia* sp., але до зниження ендо- і екзоглюканазної активності у *Trichoderma* sp. і *Fusarium* sp. у 2,5–15 разів. Ксиланазна активність знижувалась в 2,5 рази у *Trichoderma* sp., у *Fennellia* sp. значення екзоглюканазної і ксиланазної активності не відрізнялась від контрольних. На середовищі з пшеничною соломою лише у *Trichoderma* sp. спостерігали зниження екзоглюканазної активності в 10 разів, значення ендоглюканазної і ксиланазної активності не відрізнялись від таких на середовищі з ФП. У *Fusarium* sp. та *Fennellia* sp. цей субстрат виявився індуктором целюлозо- і ксиланолітичної активності. Так, у *Fusarium* sp. було незначне зростання целюлозолітичної активності (1,2–1,6 рази). У *Fennellia* sp. за цих умов значно підвищувалась целюлозо- і ксиланолітична активність (9–15 разів). У *Fusarium* sp. ксиланазна активність була виявлена лише на середовищі з пшеничною соломою та становила 30–35 од./мл.

Таким чином, досліджені природні штами мікроміцетів мають високий біотехнологічний потенціал: не потребують додаткових індукторів для гідролізу рослинних субстратів і характеризуються високим рівнем ендоглюканазної і ксиланазної активності (10–20 та 30–45 од./мл відповідно).

**ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ
К КОНЬЮГАТУ ТЕРМОЛАБИЛЬНОГО И ТЕРМОСТАБИЛЬНОГО
ЭНТЕРОТОКСИНОВ *Escherichia coli***

СУХАРЕВ Ю. С., СУХАРЕВ С. Ю.

*Частная фирма «Ветфарм», Харьков, Украина;
АТГ «Сервис Ген», Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: Yuriy_sukharev@mail.ru*

Одним из основных возбудителей инфекционных заболеваний, широко распространенных среди людей и сельскохозяйственных животных являются энтеротоксигенные эшерихии, продуцирующие термолабильный (LT) и термостабильный (ST) энтеротоксины. Серьезная роль в борьбе с токсикоинфекциями отводится ранней диагностике. Несмотря на то, что показана связь серогрупп с определенными типами продуцируемых *E. coli* энтеротоксинами, нет четкой корреляции между продукцией энтеротоксинов и наличием определенных соматических (O) и капсульных (K) антигенов у этих бактерий. Исходя из этого, целесообразным представляется определение непосредственно токсинов. К сожалению, до настоящего времени простых и достаточно надежных методов детекции токсинов не создано. Оптимальной, на наш взгляд, является разработка ИФА тест-систем для детекции токсинов. Идеальным инструментом для создания подобных методов индикации являются моноклональные антитела (мкАт). Цель настоящего исследования состояла в получении гибридом, продуцирующих мкАт к конъюгату LT и ST энтеротоксинов *E. coli* и использование их для разработки ИФА тест-системы для одномоментной детекции как LT, так и ST в объектах ветнадзора.

Мыши конвенциональной категории были иммунизированы конъюгатом токсинов с неполным адьювантом Фрейнда в подушечки задних лапок трижды с интервалом 14 дней дозами: 2,5, 5 и 20 мкг/мышь. Через 6 сут после последней иммунизации у мышей забирали подколенные лимфоузлы, из которых выделяли лимфоциты для гибридизации с клетками миеломы SP2/0 по методу Келлера и Мильштейна. Гибридизацию проводили при соотношении клеток 5 : 1 в 45%-ом растворе ПЭГ-4000 с 10%-ым DMSO в среде DMEM в течение 1 мин совместной инкубации. После гибридизации клетки разносили по 96-луночным планшетах, в которые за 24 ч до этого помещали мышинные макрофаги. Полученные гибридомы продуцировали мкАт исключительно класса IgG, что создавало определенные преимущества в очистке таких антител и их использовании в диагностических тест-системах. После завершения этапа селекции гибридных клеток от родительской миеломы, их культивировали в среде, не содержащей аминоптерин. Через 7–10 сут после гибридизации из лунок с активно растущими клетками отбирали культуральную среду и тестировали ее твердофазным ИФА на наличие антител к LT и ST энтеротоксинам. Из лунок, в культуральной среде которых регистрировали достоверно положительную реакцию с токсинами, отбирали клетки и клонировали их трижды методом предельных разведений в среде роста. После двух последних клонирований число положительных клонов составляло 100%. Таким образом, получены стабильные высокопродуктивные гибридомы, продуцирующие мкАт к конъюгату LT и ST энтеротоксинов, перекрестно не взаимодействующие с дифтерийным токсином, токсинами стафилококков SEA, SEB, SEI, SEG, с летальным фактором и протективным антигеном сибиреязвенного токсина. Предел обнаружения токсинов достигал 0,2 нг/мл в планшетном формате ИФА.

AMINOACYL-tRNA SYNTHETASES AS TARGETS FOR NEW ANTIBIOTICS

TUKALO M. A., BDZHOLA V. G., GOLUB A. G., GUDZERA O. I.,
KOVALENKO O. P., YAREMCHUK G. D., YARMOLUK S. M.

*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy
of Science of Ukraine, Kyiv;
e-mail: mtukalo@imbg.org.ua*

The key role of aminoacyl-tRNA synthetases in protein synthesis and other essential cellular activities has distinguished this family as an ideal antibiotic target. We are using the differences between human and prokaryotic prolyl- tyrosyl- and leucyl-tRNA synthetases for the development of the inhibitors as potential drugs against *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus pneumoniae*. The search strategy for antibacterial compounds is based on the combination of X-ray structural analysis of the target protein, computer modelling of the interaction of low-molecular ligands with the target protein and synthetic procedures of combinatorial chemistry. Recently we have solved the structure of prokaryotic prolyl-tRNA synthetase (ProRS) from *E. faecalis* (Crepin et al., 2006). The active site of prokaryote-like ProRS of the pathogenic bacteria has an open conformation, while the active site of ProRS from *T. thermophilus*, homological to human enzyme (Yaremchuk et al., 2000), is more compact. Thus, the essential differences in the structures of these enzymes give serious bases for successful development of drugs that would selectively inhibit pathogenic bacteria, without side effects for the host human organism. The crystal structure of *E. faecalis* ProRS and structural model of *M. tuberculosis* LeuRS have been used as the platforms and receptors for a computer search of potentially active compounds from a library containing over 100,000 substances. On the base of calculation results 150 and 200 promising compounds were selected for each system, respectively. Using three independent methods for *in vitro* assay the effect of the compounds on enzymatic activities of *E. faecalis*, *S. pneumoniae* prolyl-tRNA synthetases and *M. tuberculosis* leucyl-tRNA synthetase were tested. Several compounds, quinoline derivatives have shown most significant effect of inhibition for both prolyl-tRNA synthetases and other for pathogenic leucyl-tRNA synthetase in the micromolar range, were selected. Some of inhibitors for *M. tuberculosis* LeuRS have a good antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*.

ВИЗНАЧЕННЯ КОНСТАНТ ДИСОЦІАЦІЇ РЕАКЦІЙ ЗВ'ЯЗУВАННЯ ФІБРИН(ОГЕН)-СПЕЦИФІЧНИХ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ ІЗ ФІБРИНОМ І ФІБРИНОГЕНОМ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕТОДУ ПОВЕРХНЕВОГО ПЛАЗМОННОГО РЕЗОНАНСУ

¹ЦАП П. Ю., ¹МАКОГОНЕНКО Є. М., ¹БЕРЕЗНИЦЬКИЙ Г. К.,
¹КОЛЕСНИКОВА І. М., ²УШЕНІН Ю. В., ²БЕКЕТОВ Г. М., ¹УРВАНТ Л. П.,
¹ДУБОВЕЦЬКИЙ А. С., ¹ЛУГОВСЬКОЇ Е. В., ¹КОМІСАРЕНКО С. В.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
²Інститут фізики напівпровідників ім. В. Є. Лашкарьова
НАН України Київ;
e-mail: pavlo Yuriyovychtsap@gmail.com

Важливими біохімічними маркерами стану системи гемостазу крові людини в нормі і при різних захворюваннях серцево-судинної системи є фібриноген і фібрин. Тому розробка кількісного і швидкого методу їх визначення є актуальним біотехнологічним завданням. Одним із таких методів є метод поверхневого плазмонного резонансу з застосуванням імунобіосенсорів на основі фібрин(оген) специфічних моноклональних антитіл. Метою роботи була розробка методу визначення кінетичних

параметрів реакцій асоціації фібриногену, фібрину та X-фрагментів фібрину з фібрин(оген)-специфічними монАТ із застосуванням ППР-спектрометра «Плазмон-6» і на цій основі – програми для кількісної оцінки стабільності утворюваних комплексів антиген-антитіло. Фібрин(оген)-специфічні монАТ отримані у відділі молекулярної імунології ІБХ НАНУ. Фібриноген, фібрин-мономер і тромбін виділили із плазми крові донорів; X-фрагмент фібриногену очистили із плазмінового гідролізату Фг; реакцію асоціації комплексів антиген-антитіло досліджували з використанням методу ППР і приладу Плазмон-6, розробленого в ІФН НАНУ, в 0,02 М HEPES буфері, рН 7,4, що містив 0,3 М NaCl. Було розроблено імуносенсорні чипи, на поверхню яких ковалентно іммобілізували фібрин- і фібриноген-специфічні монАТ I-3c і II-4d відповідно. Для кожного з іммобілізованих монАТ були отримані серії сенсорограм для реакцій зв'язування з фібрином, Фг і X-фрагментом Фг у різних концентраціях. Реакції асоціації були проведені в модельних системах, сформованих із очищених протеїнів і в плазмі крові. Кожну сенсорограму аналізували з застосуванням комп'ютерного фітінгу з використанням програми Sigma plot. Отримані параметри дозволили розрахувати кінетичні константи швидкості утворення (k_a) і дисоціації (k_d) комплексів «антиген-антитіло» та визначити константу дисоціації (K_d) на основі окремої сенсорограми. Було показано, що значення константи дисоціації для реакції взаємодії монАТ I-3c з X-фрагментом фібрину desAB та для взаємодії монАТ I-3c з фібрином desAB дорівнювали 9,1 і 1,1 нМ відповідно, що вказує на зміну структури неоантигенної детермінанти після відщеплення від молекули фібрину α C-регіонів. Значення констант дисоціації для реакцій взаємодії моноклональних антитіл із фібриногеном і фібрином desAB, розчиненими у плазмі крові, складали 81 і 11,7 нМ, а в робочому буфері – 17 і 1,1 нМ відповідно. Це свідчить, що спорідненість моноклональних антитіл до досліджуваних протеїнів, розчинених у плазмі крові, слабша, ніж у робочому буфері. З використанням отриманих даних була розроблена програма розрахунку кінетичних параметрів реакції асоціації аналіт-ліганд для приладів серії Плазмон виробництва ІФН НАН України.

ІЗАТІЗОН ТА НАНОСРІБЛО ВПЛИВАЮТЬ НА РІСТ ТА РОЗВИТОК РОСЛИН ВІВСА, ЇХНЮ ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ

^{1,2}ЮРКЕВИЧ Л. Н., ¹КАЦАН В. А., ^{1,2}ПОТОПАЛЬСЬКИЙ А. І.

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;

²Інститут оздоровлення й відродження народів України, Київ
e-mail: potopalsky@imbg.org.ua, val.katsan@gmail.com

Пошук препаратів нового покоління, здатних захистити рослини від дії різноманітних стресорів довкілля та забезпечити належний рівень їх продуктивності, є дуже актуальним у наш час. Мета даного дослідження – вивчення впливу розробленого в нашій лабораторії препарату Ізатізону (Iz; похідна ізатину – N-метил ізатин β -тіосемикарбазон, марборан у композиції розчинників диметилсульфоксиду, D та поліетиленгліколю, P); його похідного – ізатітонію (It; Iz+етоній), а також розробленого в Інституті надтвердих матеріалів ім. М. В. Бакуля НАНУ і люб'язно наданого нам препарату наносрібла SS100 (S) на ріст і розвиток, елементи зернової продуктивності та вміст фотосинтетичних пігментів у листках вівса сорту Незламний, отриманого в нашій лабораторії.

Розчинами препаратів, їх комплексів та розчинників, що є їх складниками, діяли на проростаюче насіння; рослини вирощували у відкритому ґрунті на невеликих ділянках. Інтенсивність ростових процесів оцінювали за довжиною стебла при виході в трубку (Ls); на стадії викидання волотей здійснювали спектрофотометричне визначення вмісту фотосинтетичних пігментів у листках одного віку: хлорофілу *a*, C_a ; хлорофілу *b*, C_b ; сумарного вмісту хлорофілів *a* та *b*, C_{a+b} ; сумарного вмісту каротиноїдів, C_{car} ; а також величини співвідношень $C_a : C_b$ та зелених і жовтих пігментів $C_{a+b} : C_{car}$. Елементи зернової продуктивності визначали після збирання врожаю, серед них: довжина головної волоті, L; кількість зерен у волоті, G; вага зерна з головної волоті, W; вага 1000 зерен, 1000W.

У 1-му поколінні спостерігали стимулюючий вплив S на ріст стебла – приріст Ls на 11,4% ($P < 0,01$). Препарати Iz, It та S спричинювали позитивні зміни елементів продуктивності – L, G, W ($P < 0,01$), і найбільший приріст W (на 32,3%) виявлено за дії Iz. Приріст W у всіх випадках був обумовлений зростанням G. Серед змін вмісту фотосинтетичних пігментів заслуговує на увагу збільшення C_a за дії S+D (на 15,9%; $P < 0,02$). Збільшення частки хлорофілу *a* в пулі хлорофілів виявлено у разі застосування Iz та S+D+P ($P < 0,001$ і $P < 0,01$ відповідно).

У 2-му поколінні в дослідних рослин вівса виявлено багато нових ознак як щодо росту та продуктивності, так і за вмістом фотосинтетичних пігментів. Інтенсивність ростових процесів вівса при виході в трубку, на відміну від 1-го покоління, була значно вищою в усіх дослідних варіантах (до 55,4%; $P < 0,001$); у деяких варіантах приросту L та G не спостерігали; величина W, крім варіантів Iz та S, зростала також у варіантах D+S, It+S (до 23,1% та 35,2%; $P < 0,01$; $P < 0,001$), а W1000 – у всіх варіантах, крім P (на 7,1–18,4%; $P < 0,001$), тому збільшення W у 2-му поколінні у варіантах Iz, S, It+S, D+S обумовлюється як збільшенням кількості зерен у волоті, так і їхньої ваги. На відміну від 1-го покоління, спостерігали зменшення C_a у варіантах D, D+P, P та D+P+S (на 11,3–15,9%; $P < 0,05$; $P < 0,001$); C_b – у варіантах D, D+P, P, D+S та D+P+S (на 10,6–18,0%; $P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$); C_{car} – у варіантах P, P+D+S (на 10,0 та 12,5%; $P < 0,05$). Частка хлорофілу *b* збільшувалася за дії Iz та P (на 10,1 та 3,5%; $P < 0,001$ та $P < 0,05$); збільшення частки хлорофілу *a* виявлено у варіантах D+P, P+S, D+P+S (на 3,4–3,9%; $P < 0,01$).

На нашу думку, в рослинах вівса характер змін, індукованих дослідженими препаратами, може бути обумовлений адаптаційними перебудовами профілю та рівня експресії генів, відповідальних за дані ознаки, які тривають також в наступному поколінні після обробки.

СТЕНДОВІ ПОВІДОМЛЕННЯ**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА α -АМІЛАЗ
Aspergillus flavus var. *oryzae* 80428 І *Bacillus subtilis* 147**

АВДІЮК К. В., ВАРБАНЕЦЬ Л. Д.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: avdikat@i.ua*

Інтенсивний розвиток біотехнології, що спостерігається в останнє десятиліття, сприяє розширенню меж застосування ензимних препаратів у різних галузях промисловості. Щороку в світі виробляється значна кількість ензимів на загальну суму близько 2,7 млрд \$, серед яких майже 25% займають α -амілази (α -1,4-глюкан глюканогідролази, КФ 3.2.1.1). Вони широко застосовуються майже в усіх галузях, де переробляється крохмаловмісна сировина, а саме: в хлібопекарстві, пивоварінні, крохмале-патоковому, спиртовому, текстильному, паперовому виробництвах, у харчовій промисловості, медицині, для обробки стічних вод та виготовлення екологічно безпечних мийних засобів.

Внаслідок скринінгу, проведеного серед 665 штамів мікроорганізмів (грибів, бактерій та дріжджів), було відібрано два високоефективні продуценти α -амілаз *Aspergillus flavus* var. *oryzae* 80428 і *Bacillus subtilis* 147. Осадженням сульфатом амонію 90%-го насичення із супернатанту культуральної рідини було одержано ензимні препарати з α -амілазною активністю. Застосування гель-фільтрації на Тоуорpearl HW-50 та іонообмінної хроматографії на DEAE-Тоуорpearl 650 М гелях у разі з α -амілазою *A. flavus* var. *oryzae* 80428, а також афінної сорбції на крохмалі – у разі з α -амілазою *B. subtilis* 147, дозволило очистити їх у 36 і 12 разів відповідно, порівняно з їх активністю в супернатанті культуральної рідини.

Вивчення фізико-хімічних властивостей показало, що α -амілази *A. flavus* var. *oryzae* 80428 і *B. subtilis* 147 виявляють максимальну активність за температури 60 °C і 85 °C, pH 6,0 і 8,0 відповідно. На відміну від більшості відомих α -амілаз, виділені нами ензими є високостабільними за підвищених температур без додаткового внесення стабілізуючих агентів (Ca^{+2} , крохмалю): грибна α -амілаза зберігає 72% активності при 50 °C, а бактеріальна – 80% активності при 80 °C протягом 3 год інкубування. Обидва ензими мають подібну субстратну специфічність, діючи на α -1,4-глікозидні зв'язки, однак відрізняються швидкістю розщеплення субстратів (різних видів крохмалю, глікогену, амілози). Вони здатні гідролізувати як лінійні, так і розгалужені вуглеводи, але виявляють дуже низьку ефективність розщеплення циклічних субстратів (α - і β -циклодекстринів). Досліджені α -амілази є металозалежними і містять у своїй структурі дисульфідні зв'язки. Важливу роль у функціонуванні цих ензимів відіграють карбоксильні групи, а у разі з α -амілазою *B. subtilis* 147 – також і сульфгідрильні групи. Показано, що α -амілази *A. flavus* var. *oryzae* 80428 і *B. subtilis* 147 виявляють високу стійкість у присутності хелаторів, детергентів, денатуранту (сечовина) і окисника (H_2O_2).

Отже, α -амілази *A. flavus* var. *oryzae* 80428 і *B. subtilis* 147 можна застосовувати у високотемпературних процесах переробки крохмалю та у виготовленні мийних засобів.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДНЫХ ГОРМОНОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ МЕТАЛЛОВ

¹АНДРУСИШИНА И. Н., ²ГРОМОВОЙ Т. Ю., ³ГОРЧЕВ В. Ф.

¹ГУ «Институт медицины труда НАМН Украины», Киев;

²Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко НАН Украины, Киев;

³Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;

e-mail: irina_andrei@voliacable.com

В последние годы особое внимание исследователей привлекает возможность использования нанотехнологий в различных сферах медицины. Однако свойства наноматериалов недостаточно изучены, а интенсификация их применения в медицине и фармакологии сопряжена с риском неблагоприятного воздействия на организм человека. В связи с этим, встает вопрос о необходимости выяснения механизмов взаимодействия наночастиц (НЧ) металлов с молекулами протеинов. Теоретически НЧ металлов и их оксидов также как и металлов в форме ионов и микрочастиц могут быть как инициаторами, катализаторами, промоторами или ингибиторами многих биохимических реакций, протекающих в организме, что представляет особый фактор риска, вызывая впоследствии разнообразные по степени тяжести хронические эффекты. Поэтому детальная информация о взаимодействии протеинов с НЧ металлов необходима для понимания биологических процессов, протекающих на молекулярном уровне.

В данном исследовании были использованы дисперсные порошки металлического серебра, алюминия, меди и железа, полученные методом электронно-лучевого испарения и осаждения паровой фазы (технология Б. Е. Патона и Б. А. Мовчана, Институт электросварки им. Е. О. Патона НАНУ). Также были использованы наноаквахелаты хрома и марганца, полученные методом эрозийно-взрывного диспергирования (по методу В. Г. Каплуненко, М.В.Косинова, НПО «Нанобиотехнологии», Украина).

НЧ металлов инкубировали в 1%-ых растворах тиреотропного гормона (ТТГ) и инсулина человека. Распределение НЧ по размерам в коллоидной системе определяли методом фотонкорреляционной спектроскопии на лазерном корреляционном спектрометре Zeta Sizer-3 (Malvern, Великобритания). Масс-спектры инкубированных с металлами пептидов были получены методом MALDI-TOF на приборе Autoflex II-(Bruker). Концентрация металлов в коллоидных растворах НЧ определялась с помощью метода атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) на приборе Optima 2100 DV.

Как показали исследования, НЧ металлов имели близкую к сферической форму. Их размеры находились в диапазоне от 3 до 50 нм. При этом меньшие размеры НЧ были характерны для инсулина, а большие для ТТГ. Концентрация металлов в исследуемых растворах НЧ металлов составила 40–50 моль/л (исключение составил порошок НЧ алюминия). Методом MALDI-TOF выявлено, что взаимодействие НЧ металлов с пептидами приводит к изменению молекулярных масс протеинов. Наблюдается существенное угнетение интенсивности одно- и двухзарядных пиков исследуемых пептидов в случае инкубации НЧ серебра, марганца и хрома. Кроме того, методом масс-спектрометрии установлено, что НЧ серебра, меди и алюминия в модельных растворах исследуемых пептидов находятся в форме оксидов металлов, а НЧ хрома и марганца (метод эрозийно-взрывного диспергирования) – в форме гидратов.

Таким образом, была показана возможность прямого взаимодействия пептидов с НЧ, которое приводит к изменению их молекулярных масс за счет присоединения отдельных атомов НЧ металлов. Это взаимодействие приводит к конформационным изменениям пептидов. Используемые методические подходы позволяют не только оценить эффекты взаимодействия НЧ с протеинами, но и предвидеть характер такого взаимодействия. Поэтому для эффективной оценки влияния наноматериалов на живой организм могут быть использованы спектральные методы, что поможет адекватно оценить биобезопасность наноматериалов.

СКЛАД ЖИРНИХ КИСЛОТ БАКТЕРІЙ-АНТАГОНІСТІВ ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

БАБЕНКО Д. О., КОРОТАЄВА Н. В., КРИЛОВА К. Д., ІВАНИЦЯ В. О.

*Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Україна;
e-mail: polevod@rambler.ru*

Екологічно безпечною альтернативою хімічним пестицидам є біологічні препарати, створені на основі природних мікробних агентів регуляції чисельності фітофагів і фітопатогенів. Одним із найперспективніших напрямів у боротьбі зі збудниками захворювань рослин є використання методів біоконтролю, які включають застосування біопрепаратів на основі мікроорганізмів-антагоністів, бактеріоцинів і бактеріофагів.

Метою роботи було охарактеризувати жирно-кислотний профіль відібраних штамів-антагоністів фітопатогенних бактерій *Erwinia carotovora* і *Agrobacterium tumefaciens* та попередньо визначити їх видову приналежність. У роботі досліджено склад жирних кислот бактерій 9 штамів активних антагоністів, попередньо ізольованих на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ ім. І. І. Мечникова. Бактеріальні культури вирощували на твердому середовищі Tryptic Soy Agar (Merck) при температурі 28 °С. Жирно-кислотний аналіз досліджуваних штамів проводили з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock (MIDI, USA) на базі газового хроматографа Agilent 7890 (Agilent Technologies, USA). Пробопідготовку та хроматографічне розділення метилових ефірів жирних кислот проводили згідно зі стандартним протоколом (MIS Operating Manual, 2012).

Показано, що домінантними в профілях жирних кислот штамів були C15:0 iso (20,39–57,4%), C15:0 anteiso (31,89–49,94%), в меншій кількості виявлено C17:0 anteiso (2,60–12,12%), C17:0 iso (2,53–8,9 %), C16:0 (0,88–8,71%) та C16:0 iso (0,77–2,67%). Вміст жирних кислот C17:1 iso w10c, C16:1 wllc, C13:0, C14:0, C14:0 iso залежно від штаму складає до 3% від загальної суми площ піків. Також ідентифіковано жирні кислоти C16:1 w7c alcohol, C17:0-2OH, C18:1-2OH, C13:0 anteiso, вміст яких становив до 1% від загальної суми площ піків. Наявність у клітинах значного вмісту розгалужених жирних кислот, у тому числі з розташуванням метильної групи в ізо- та антеізоположенні, є характерною для бактерій роду *Bacillus*, що підтверджується морфологічними і тінкторіальними ознаками досліджених штамів, а також здатністю до формування спор. За складом жирних кислот 6 штамів віднесено до виду *B. megatherium* subgroup A (індекс подібності 0,58–0,666), 1 – *B. atrophaeus* (індекс подібності – 0,676). Ще 2 штами віднесено до *Paenibacillus alvei* subgroup A (ІП 0,538) та *Virgibacillus pantothenicus* (ІП 0,550). Ці види є близькоспорідненими і тому потрібна додаткова ідентифікація за допомогою генетичних маркерів та низки біохімічних тестів із використанням АРІ-систем (Analytical Profile Index).

Таким чином, охарактеризовано склад жирних кислот бактерій 9 штамів активних антагоністів проти фітопатогенних ервіній та агробактерій. Серед загальної кількості жирних кислот переважають жирні кислоти з розгалуженим ланцюгом. Автоматичною системою ідентифікації всі штами віднесено до роду *Bacillus*, з індексом подібності від 0,538 до 0,666, що підтверджується морфологічними, культуральними та тінкторіальними властивостями.

GROWTH INHIBITION OF GLIAL CELLS USING NANOCONJUGATES WITH MORPHOLINO OLIGONUCLEOTIDES TO *CHI3L1*

BALYNSKA O., DUBEI I., KAVSAN V.

*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: l.v.balynskaya@gmail.com*

Developing a system for growth inhibition of glial brain tumors using nanoconjugates with new effective anticancer agents that have directional effect is highly necessary in clinics. Despite the advantages of siRNAs as a novel class of drugs, the limited cellular uptake, low chemical stability, and unfavorable pharmacokinetics have limited their application. Indeed, blood nucleases easily degrade naked siRNAs, so in the last decade for gene knockdown morpholino oligonucleotide are used increasingly. *CHI3L1* encoding the secreted chitinase-3-like 1 protein was among genes with the most pronounced increased expression in glioblastoma. Earlier we have shown that *CHI3L1* has oncogenic properties *in vitro* and *in vivo*. Thus, inhibition of *CHI3L1* may have an influence at tumor formation. To elucidate the relationship between *CHI3L1* and tumorigenesis, we employed a *CHI3L1* gene knockdown approach by morpholino oligonucleotides to *CHI3L1* (MO_*CHI3L1*) transfection to U87MG cells, which produced *CHI3L1* endogenously. Blockade of *CHI3L1* expression in U87MG cells decreased the ability of these cells to grow in soft agar, one of the main features of malignant cells. At present, our work is dedicated to creation of nanoconjugates based on poly-beta-maleic acid with MO_*CHI3L1* and other functional modules, which are able to penetrate across blood-brain barrier. The main advantages of this drug is non-toxicity, non-immunogenicity, stability in blood circulation, easy penetration into the tumor cells and the release of the therapeutic agent, the ability to biodegradation, elimination from the body, and the possibility of introducing of several therapeutic agents aimed at different targets, which significantly increases antitumor effect. We have shown that created nanoconjugates, based on poly-maleic acid with MO_*CHI3L1*, can penetrate into the U87MG cells.

ВИЗНАЧЕННЯ МЕТАЛОРЕЗИСТЕНТНОСТІ СОЛЕСТИЙКИХ ДРІЖДЖОВИХ ІЗОЛЯТІВ АКВАТОРІЇ ОСТРОВА ЗМІЊНИЙ

*БІЛОІВАНЕНКО С. О., ЛІСЮТИН Г. В., ДІМОВА М. І.,
КЛАДНИЦЬКИЙ В. Ю., ТЕСЛЕНКО А. В.*

*Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Україна;
e-mail: beloiv@onu.edu.ua*

Острів Зміїний знаходиться на перетині потоків водних об'єктів Європи. Тому виділення дріжджів з акваторії острова Зміїний та вивчення резистентності до тяжких металів морських дріжджів набуває особливого значення для подальшого впровадження та використання біотехнологічних засобів захисту від негативного впливу людини. Метою дослідження було визначення резистентності виділених штамів дріжджів до п'яти значимих важких металів (Cr, Ni, Cu, Zn, Pb). Виділення штамів дріжджів із води проводили як методом пророщування фільтрів, так і висівом. Вивчали їхні стандартні морфологічні, фізіологічні і біохімічні ознаки. Ідентифікацію штамів проводили за визначником. Рівень резистентності встановлювали шляхом посівів на середовища з різними концентраціями солей важких металів (Cr, Ni, Cu, Zn, Pb) порівняно з контролем. Встановлено, що найстійкішим штамом до іонів свинцю є пігментовані дріжджі *Aureobasidium pullulans*, що здатні рости при концентрації Pb^{2+} 50 мг/л. За наявності в середовищі культивування значних концентрацій металів, таких як свинець, у дріжджоподібних клітин *Aureobasidium pullulans* індукується поява меланінового пігменту.

Всі пігментовані штами дріжджів роду *Rhodotorula* та інші при концентрації 200 мг/л Pb^{2+} і вище втрачали здатність до синтезу пігментів. За вивчення стійкості серед штамів до Cu^{2+} встановлено, що найстійкішим є штам *Candida albicans*, що росте навіть при 500 мг/л Cu^{2+} . За надвисоких концентрацій Cu^{2+} , починаючи із 250 мг/л, спостерігали зміну кольору біомаси *Candida albicans* на світло-зелений, що свідчить про перетворення та накопичення в біомасі іонів одновалентної міді Cu^+ . Втрата пігментації більшості дріжджів спостерігається при концентрації 150 мг/л Cu^{2+} . Для ізолятів острова Зміїний найбільш токсичним виявився нікель, навіть при концентрації 50 мг/л Ni^+ більшість видів дріжджів не росла. Проте розвиток штаму *Rhodotorulla rubra* на твердому середовищі спостерігається навіть у разі концентрації 100 мг/л Ni^+ . Втрату до пігментації серед усіх ізолятів, крім *Aureobasidium pulullans*, виявили за 75 мг/л Ni^+ . Дріжджі *Aureobasidium* не втрачають пігментації навіть до остаточної затримки росту, що свідчить про надзвичайну важливість чорного пігменту до дії несприятливих чинників. Іони Cr^{3+} для ізолятів дріжджів острова Зміїний найменш токсичні. Затримка росту не спостерігається навіть у разі його концентрації 140 мг/л. Найстійкішим до цього іону є штам *Candida albicans* (750 мг/л Cr^{3+}). Найрезистентнішим до іонів Zn^{2+} виявляється пігментований штам *Aureobasidium pulullans*. Він здатен рости за концентрацій 150 мг/л Zn^{2+} . Таким чином, одержані дані свідчать про те, що найстійкішими серед ізолятів акваторії острова Зміїний до важких металів є пігментовані штами дріжджів *Aureobasidium pulullans* (Pb^{2+} та Ni^+), *Rhodotorulla rubra* (Cr^{3+}) та непігментований штам *Candida albicans* (Cu^{2+}). Ці культури краще адаптуються до високих концентрацій металів в середовищі. Візуально концентрування деяких важких металів (Cu^+) в біомасі клітин дріжджів спостерігається на твердому живильному середовищі з агаром. Дріжджі акваторії о. Зміїний втрачають здатність до біосинтезу пігментів у присутності токсичних концентрацій важких металів, крім *Aureobasidium pulullans*, в якого виявляється протилежний ефект. Ці штами можуть бути рекомендовані для біотехнологічного очищення води від важких металів.

THE BIOCHEMICAL EVALUATION OF DRUGS THAT ARE DEVELOPED ON THE BASIS OF *Basidiomycetes*

¹BOYKO O. A., ²VESELSKIY S. P., ¹GRYGORYUK I. P.,
¹MELNYCHUK M. D., ^{2,3}BOYKO A. L.

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: Olga_bojko@ukr.net;
²Taras Shevchenko Kyiv National University,
ESC "Institute of Biology", Ukraine;
³Institute of Agroecology and Environmental Management
of NAAS of Ukraine, Kyiv

The results of technological and biochemical processes of biologically-active preparation, which are based on types of *Basidiomycetes* mushrooms involved from natural ecological niche and conditions of production, are given. The researches included several components: selection of fruit bodies and their analysis in order to cull in case of affection with pathogens (bacteria, microscopic fungi, viruses); selection of appropriate plants of different families to use their biochemical fractions for carriers of preparation main components; products biochemical composition determination; conducting of laboratory and industrial experiments on various crops. The work include modern methods such as excretion of biochemical compounds, ELISA, electron microscopy, analysis of virus structural proteins and nucleic acids; using of developed pathogen diagnostic express method, which gave opportunity to detect non identified structures and which are not exposed to staining by salts of heavy metal, had small sizes and often were identified on mushrooms' caps; selection of culture media; determining determine the concentration of peptides, phospholipids, phytosterols and free amino acids. After the selection of applicable fungi, it was shown that a significant number of them (up to 62%) were affected by germs and under the natural conditions were the carriers of latent infection, at the same time, under the biotechnological conditions of transform production such infections caused significant pathological

processes within the fruiting bodies and mycelium. They are capable to decrease the quality of the fungi producing biochemical fractions, which are applied in the fields of pharmaceuticals and agriculture. More than 15 species of fungi were investigated in the current research. – *Agaricus bisporus* (J.Lge.) Imbach.) and other agarics, *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst), *Lycoperdon perlatum* Pers., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm.

They were used as a basis for the development of such biopreparations as “BOA”, “Bioecofunge-1” along with their biochemical evaluation and developed technology of application in different combinations for the stimulation of processes of growth and development of plants in the process of their ontogenesis. Before the application of biopreparations under the field conditions, the inquiry of the informational system was performed to determine the condition of plant taking into account the intensity of photosynthesis and key enzymes, which is protected by patent for invention of Ukraine.

BIOFUNCTIONALIZED CARBON NANOTUBES AS TRANSGENE DELIVERY VECTORS FOR PLANT CELLS

BURLAKA O. M., PIRKO Ya. V., YEMETS A. I.

*Institute of Food Biotechnology and Genomics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: burlaka29@gmail.com*

In order to develop the novel approach for plants genetic transformation using carbon nanotubes (CNTs) as inorganic DNA delivery vectors we examined the ability of several biomolecules to interact non-covalently with carbon nanotubes (CNTs) resulting in formation of water dispersible conjugates. Functionalized CNTs were used then for testing their ability to deliver DNA into plant protoplasts (cells with enzymatically digested cell walls) and mesophyll plant cells. Having the favorable for cell entering length/diameter ratio, large surface area, responsible for binding molecules, and due to the ability of graphitic surface to bind DNA via non-covalent stacking interactions, CNTs are considered to be suitable for the delivery of DNA in genetic transformation of plants (Serag et al., 2011). For biological and biomedical applications, the lack of CNTs solubility in aqueous media has been a major technical barrier. The recent expansion in methods to chemically modify and functionalize CNTs has made it possible to solubilize and disperse them in water, but existing CNT surface functionalization protocols often involve usage of hazardous chemicals and critical reaction conditions. Therefore environmentally and biologically friendly functionalization at present is of principal interest in tailoring of CNTs with desired surface properties for biological approaches such as genetic engineering of plants (Karousis et al., 2010). We examined the ability of several biomolecules – double stranded DNAs, deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs), bovine serum albumin (BSA), sodium humate, spermidine, L-proline, peptone, vitreous humor extract compounds – to interact with single-walled CNTs (SWNTs) and multi-walled CNTs (MWNTs) to obtain biologically functionalized CNTs (fCNTs) that can be used as molecular transporters in genetic transformation of plants. Comparing to the existing foreign DNA delivery methods in genetic transformation for plant cells such as gene gun, electroporation, and microinjection the nanoparticle-based strategy viewed to be advantageous in easy operation and high efficiency. DNAs, dNTPs, BSA, vitreous humor extract and sodium humate resulted in forming of stable dispersions of CNTs-biomolecule conjugates in water. Spermidine, L-proline, peptone demonstrated low efficiency as functionalizing agents. Spectrophotometric assay revealed that fCNTs form stable polydisperse aqueous colloidal system obeying Bouguer-Lambert-Beer law and suggesting negligible sample precipitation. Transmission electron microscopy studies revealed that the fCNTs were shorter than pristine CNTs (100 nm – 5 μm vs. initial 2,5 – 20 μm). We suggest that ultrasound treatment causes significant shortening of CNTs during functionalization procedure. Shortened CNTs are considered to be more favorable for cell entering. Atomic-force microscopy results demonstrated the increase in diameter of CNTs-based structures after functionalization from initial 6-13 nm to 20-30 nm obviously due to the presence of functionalizing molecules stacked onto the surface of CNTs. Raman spectroscopy results indicated that ultrasonication and interactions with molecules change structure and properties of CNTs. Studies of

fCNTs properties and their ability to act as DNA transporters in plant genetic transformation were carried out on the *Nicotiana tabacum* leaf mesophyll protoplasts and leaf discs from aseptic *N. tabacum* shoots. For this a plasmid pGreen 0029 carrying reporter gene of yellow fluorescent protein (YFP) and kanamycin resistance nptII gene as selectable marker was used. Transient expression of YFP gene in protoplasts has been certified. Stable transformation of *N. tabacum* leaf explants was observed. The obtained results allow suggest that the frequency of fCNTs-plasmid DNA conjugates penetration into protoplasts is higher than that of leaf discs due to the lack of natural barrier (cell wall) in protoplasts.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ
НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ
Streptomyces recifensis var. *lyticus* П-29**

*ВЛАСЕНКО О. Г., ТЫМЧУК А. А., ТКАЧЕНКО В. П.,
ЖЕРНОСЕКОВА И. В., ВИННИКОВ А. И.*

*Днепропетровский национальный университет
имени Олеса Гончара, Украина;
e-mail: microviro@rambler.ru*

Тяжелые металлы (ТМ) являются одной из причин антропогенного загрязнения биосферы. Накапливаясь в почвах, металлы ухудшают физико-химические свойства последних и условия жизнедеятельности микроорганизмов. Исследование характера действия ТМ на микроорганизмы является важным этапом для решения экологических проблем, связанных с оценкой состояния окружающей среды, разработкой надежных способов ее очистки, поиском биологических индикаторов техногенного загрязнения. Известно, что реакция микроорганизмов на токсическое действие металлов может быть использована как тест на уровень загрязнения окружающей среды. Поэтому, актуальным является поиск и изучение высокочувствительных микробных тест-объектов на присутствие ТМ.

Целью работы было изучение характера влияния ТМ (Cd, Cu, Co, Zn, Pb) на физиологическую активность *Streptomyces recifensis* var. *lyticus*. Объектом исследования был протопластический вариант стрептомицета П-29 – продуцент комплекса литических энзимов, который культивировали на плотной среде Гаузе с добавлением ТМ в концентрациях от 0,01 мМ до 50 мМ. Определяли выживаемость штамма, подсчитывая количество колониеобразующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл) моноспоровой взвеси, приготовленной по 10 стандарту мутности. Наблюдали за наличием пигментации среды, субстратного и воздушного мицелия колоний. Также проводили периодическое культивирование штамма на ферментационной среде с добавлением ТМ в концентрации 0,01 мМ и 1,0 мМ (72 ч, 220 об./мин, 28°C). Влияние ТМ изучали на показателях накопления биомассы продуцентом, концентрации экзогенного протеина в супернатанте культуральной жидкости, уровня активности энзимов, разрушающих клеточную стенку стафилококка. В качестве контроля служила оценка развития стрептомицета на средах без внесения ТМ.

В результате проведенных экспериментов на плотной среде определены концентрации ТМ, угнетающие рост стрептомицета, которые составляли для Zn²⁺, Pb²⁺ – 50 мМ, Co²⁺ – 10 мМ, Cd²⁺, Cu²⁺ – 1,0 мМ. Впервые установлено, что Zn²⁺ в минимальной концентрации 0,01 мМ стимулировал КОЕ/мл в 1,5 раза, а при 1,0 мМ в 2,7 раза. Подобное влияние оказывал Co²⁺, где стимуляция составляла 32 и 63%. Существенно увеличивается данный показатель (на 66 и 67%) при действии Cu²⁺ и Cd²⁺, но только в минимальной концентрации металла, увеличение которой на 2 порядка полностью угнетает рост культуры. Стимуляция КОЕ/мл Pb²⁺ составила 12%. Действие Cu²⁺, Co²⁺, Pb²⁺, Cd²⁺ сопровождалось изменением морфологии колоний, которые были минимального размера 1,0 ± 0,1 мм со слабо развитым воздушным, субстратным мицелием и слабовыраженной пигментацией. Отмечено, что Zn²⁺ не влияет на размер колоний (3,2 ± 0,1 мм) по сравнению с контролем.

В периодической культуре отмечается стимуляция пигментообразования при 0,01 мМ Cu^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , а ингибирование при 1,0 мМ. Наблюдается полная потеря способности к синтезу пигмента в присутствии Zn^{2+} и Pb^{2+} независимо от их концентрации. Ионы Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} стимулируют количество биомассы штамма на 12, 21 и 17%. Кроме того, добавление 0,01 мМ Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} способствует увеличению концентрации экзогенного протеина на 5,0%, а 1,0 мМ – угнетению на 31%. Влияние Cu^{2+} приводит к повышению активности стафилолизинов на 33%, а Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} к ингибированию на 72, 32 и 34%.

Резюмируя сказанное, можно расположить ТМ в порядке уменьшения их токсического действия: Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} . Таким образом, штамм П-29 физиологически активен при низких концентрациях Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , что дает нам основание предложить его для использования как тест-объект в обнаружении загрязнения тяжелыми металлами окружающей среды.

ВПЛИВ ШАПЕРОНІВ НА БАКТЕРІАЛЬНУ ЕКСПРЕСІЮ РЕКОМБІНАНТНОГО ПРОТЕЇНУ АІМР1/Р43 ЛЮДИНИ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ ШТАМУ *E. coli Arctic express(DE3)*

^{1,2}ВОРОБИЙОВА Н. В., ^{1,2}КОРНЕЛЮК О. І.

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;

²Інститут високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ;

e-mail: vorobyova_natali_0307@ukr.net

Протеїн АІМР1/р43 людини (також відомий як ргоЕМАР ІІ – попередник цитокіну ЕМАР ІІ, ендотеліального і моноцитарного поліпептиду ІІ) є допоміжним компонентом мультиаміноацил-тРНК синтетазного комплексу у вищих еукаріотів. Структура протеїну АІМР1/р43 включає N-кінцевий модуль (залишки 1–146), який містить coiled-coil сегменти і лізинзбагачений кластер та С-кінцевий модуль (цитокін ЕМАР ІІ, залишки 147–312). ЕМАР ІІ включає Муф-домен, що містить структурну згортку OB-fold з цитокіновим мотивом та А-субдомен із сигналом ядерної локалізації. ЕМАР ІІ – це мультифункціональний цитокін, який утворюється під час патологічних процесів внаслідок посттрансляційного процесингу попередника АІМР1/р43. Дослідження цитокінової активності як АІМР1/р43, так і його похідного – ЕМАР ІІ, є перспективним напрямом розробки нових терапевтичних препаратів.

Оптимізацію бактеріальної експресії АІМР1/р43 попередньо проведено за культивування штамму-продуцента *E. coli* BL21(DE3)RIL при 37 °С, концентрації індуктора транскрипції ІПТГ 1 мМ протягом 4 годин, за якої відзначається високий рівень експресії цільового продукту, проте ~90% синтезованого протеїну знаходиться в нерозчинному стані. З метою підвищення виходу функціонально-активного протеїну АІМР1/р43 у розчинному стані в роботі проведено оптимізацію таких факторів, як концентрація ІПТГ (ізопропіл-β-D-1-тіогалактопіранозид), температура (діапазон 15–37 °С) та час культивування штамму-продуцента після індукції транскрипції (2, 4, 8, 12 і 16 год). Завдяки одержаним результатам виявлено, що розчинність рекомбінантного протеїну АІМР1/р43 істотно підвищується у разі зменшення концентрації ІПТГ, зниження температури і підвищення часу культивування. Проте встановлено, що під час зберігання рекомбінантного протеїну концентрація функціонально активної форми АІМР1/р43 істотно знижується внаслідок його агрегації.

На наступному етапі було перевірено вплив шаперонів на утворення цільового протеїну в розчинному стані. З цією метою було використано клітини *E. coli* штамму *Arctic express(DE3)*, які коекспресують цільовий протеїн одночасно із шаперонами Срп60 і Срп10. Визначено оптимальні умови проведення бактеріальної експресії: концентрація ІПТГ – 1 мМ, температура – 13 °С, час – 24 год. Очистку АІМР1/р43 з бактеріальної культури проводили методом металхелатуючої хроматографії на колонці з Ni-NTA агарозою при рН 8,0. Рекомбінантний протеїн елюювали 50 мМ Na-фосфатним

буфером, що містив 150 мМ NaCl, 200 мМ імідазолу і 5 мМ 2-меркаптоетанолу. Вміст протеїну у фракціях визначали спектрофотометрично за оптичним поглинанням на 280 нм.

Встановлено, що внаслідок коекспресії рекомбінантного протеїну АІМР1/p43 із шаперонами вихід цільового протеїну в розчинній функціонально-активній формі підвищується в 2,7 раза. Це відкриває перспективу одержання протеїну АІМР1 у препаративній кількості для його подальших досліджень та впровадження як нового продукту молекулярної біотехнології.

ФЛУОРЕСЦЕНТНІ НАНОЧАСТИНКИ БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ: СИНТЕЗ ТА БІОАНАЛІТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ

^{1,2}ГОНЧАР М. В., ¹СТАСЮК Н. С., ¹ГАЙДА Г. З.

¹Інститут біології клітини НАН України, Львів;

²Інститут прикладної біотехнології і фундаментальних наук,

Жешувський університет, Кольбушова, Польща;

e-mail: gonchar@cellbiol.lviv.ua

Наноматеріали (НМ) є важливими об'єктами досліджень у галузі хімії та біотехнології завдяки новим хімічним та фізичним властивостям, а також здатністю до каталізу. Важливою характеристикою наносистем є можливість регулювати їхні фізико-хімічні властивості, змінюючи розмір і форми наночастинок, що дозволяє скеровано змінювати характеристики відомих сполук, відкрити нові можливості їх застосування. Проста процедура синтезу НМ, а також їхня здатність зв'язувати біологічні молекули робить їх привабливими кандидатами для використання в сенсорних технологіях та медицині. НМ мають контрольований розмір та чутливість до зовнішнього впливу, саме тому вони перспективні для розробки нових діагностичних тестів, а також як контрастні та лікарські речовини, зокрема для діагностики і лікування раку.

Внаслідок наших досліджень синтезовано наночастинки (НЧ) срібла та золота із використанням неорганічних відновників – тринатрій цитрату та натрій боргідриду. Методами скануючої, атомно-силової, трансмісійної електронної мікроскопії та рентгено-структурного аналізу доведено нанорозмірність одержаних Au-НЧ, Ag-НЧ та їх гібридів – Au/Ag-НЧ і Ag/Au-НЧ. За допомогою флуоресцентної електронної мікроскопії показано, що Au-НЧ та Ag-НЧ випромінюють лише синє світло, тоді як гібридні НЧ випромінюють синє, зелене, червоне та інфрачервоне світло.

На моделі метилотрофних дріжджів *Hansenula polymorpha* вивчено токсичний вплив синтезованих НЧ на клітину. Встановлено, що взаємодія НЧ з клітиною залежить від розміру НЧ, тривалості експозиції з клітиною та природи НЧ. Досліджено стабільність свічення НЧ в клітині та життєздатність клітин дріжджів, модифікованих НЧ. Показано, що завдяки унікальним флуоресцентним властивостям гібридних НЧ стає можливим спостереження локалізації НЧ всередині клітини.

Роботу виконано за фінансової підтримки НАН України в рамках комплексної науково-технічної програми «Сенсорні прилади для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб: метрологічне забезпечення та дослідна експлуатація» (проект № 13/2014), спільного Українсько-Білоруського проекту Ф 54.4/031, а також міжнародного індивідуального гранту від компанії «ОПТЕК» (Стасюк-2014).

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕРИРОВАННЫХ *IN VITRO*
ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ АКТИВАЦИИ
ЛИПОПОЛИСАХАРИДОМ И ИНТЕРФЕРОНОМ- α**

*ГОРБАЧА А. И., ХРАНОВСКАЯ Н. Н., СКАЧКОВА О. В.,
СВЕРГУН Н. Н., НИКУЛИНА В. В., СИДОР Р. И.*

*Национальный институт рака, Киев, Украина;
e-mail: horbach.alex@gmail.com*

В противоопухолевых вакцинах первого поколения дендритные клетки (ДК) имеют характеристики незрелых или частично зрелых клеток и обладают ограниченными миграционными и стимуляторными способностями. Вакцины следующего поколения включают ДК, генерированные в присутствии «стандартного коктейля» цитокинов, имеют желательную степень зрелости, однако сниженную функциональную активность, в частности, в отношении продукции биоактивного IL-12p70. Для устранения этих недостатков и определения наиболее оптимальных условий созревания ДК нами были предприняты попытки использования в качестве дозревающего стимула IFN- α в комбинации с лигандами TLR.

Для генерации ДК были использованы мононуклеарные клетки, полученные из периферической крови 10 практически здоровых людей. Клетки инкубировали в полной питательной среде RPMI-1640, 100 мкг/мл гентамицина, 5% ЭТС, 40 нг/мл G-CSF в течение 6 суток при 37 °C в CO₂-инкубаторе при 5% CO₂. На 7-е сутки к клеткам добавляли на 24 часа LPS (10 мкг/мл) и/или IFN- α в концентрациях 10 или 100 МЕ/мл для индукции созревания. Фенотипический анализ ДК проводили методом точной цитофлуориметрии. Уровень экспрессии генов IL-12p40, IL-12p35, IFN- γ , TNF- α , IL-10, TGF- β , RANTES/CCL5, MIP-1/CCL3 определяли методом Real Time ПЦР с использованием специфических праймеров, TaqMan зондов или флуорохрома SYBRGreen.

В наших исследованиях сочетание двух активирующих сигналов – IFN- α и LPS не влияет на фенотипические характеристики ДК, однако существенно модулирует цитокин- и хемокинсекреторную активность ДК, обуславливая доминирование провоспалительного потенциала. Наиболее значимые изменения наблюдаются в соотношении уровней экспрессии IL-12p40/IL-10, TNF- α /IL-10 и RANTES/MIP-1 α . Наиболее выраженное усиление экспрессии TNF- α наблюдается в популяции LPS+IFN- α (100 тыс. МЕ/мл, активированных ДК ($P < 0,05$)). Существенной разницы в уровне экспрессии IFN- γ между культурами активированных ДК не выявлено. Уровень экспрессии IL-10 достаточно высок независимо от варианта стимуляции ДК, и находится в обратной зависимости от уровня экспрессии мРНК IL-12p40. Наиболее выраженная экспрессия IL-12p40 отмечена при активации ДК с помощью сочетания LPS+IFN- α (100 тыс. МЕ/мл), ($P < 0,05$). При использовании LPS в качестве монофактора экспрессия MIP-1 α ДК несколько превалирует над экспрессией RANTES. При добавлении IFN- α к LPS наблюдается совсем иная картина, демонстрирующая значительное (более чем в 3 раза) превышение уровня экспрессии хемокину RANTES над MIP-1 α . Таким образом, комбинация факторов – IFN- α и LPS позволяет получать зрелые, Th1-поляризующие ДК. Данное свойство зрелых ДК исключительно важно для создания противоопухолевых клеточных вакцин. Полученные нами результаты обосновывают возможность и перспективность использования комбинации факторов IFN- α и LPS для оптимизации методов получения ДК, пригодных для применения в качестве клеточной основы при создании индивидуальных лечебных вакцин.

**СКРИНИНГ ШТАММОВ БАЦИЛЛ – АНТАГОНИСТОВ
ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

ГРАБОВА А. Ю., ДРАГОВОЗ И. В., ЗЕЛЕНАЯ Л. Б.,
КРЮЧКОВА Л. А., ПАСИЧНИК Л. А., АВДЕЕВА Л. В.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;
e-mail: gau.imv@ukr.net

По данным литературы, 4–5% функционально активного генома бацилл содержит информацию о более чем 24 соединений антибиотической природы. Известно фунгицидное действие, в частности, липопептидных антибиотиков (итуринов, сурфактинов, фенгицинов) на рост фитопатогенных микромицетов. Кроме прямого биоцидного действия, такие антибиотики могут повышать компетентность ризосферы растений и индуцировать фитоиммунитет. Важной характеристикой бацилл является их высокая конкурентоспособность при образовании бактериально-растительных ассоциаций и повышенная жизнеспособность за счет образования эндоспор. Перечисленные свойства свидетельствуют о высокой экологической пластичности бацилл, что делает их перспективными при создании биопрепаратов для защиты растений от фитопатогенов бактериальной и грибной природы.

Целью работы был скрининг штаммов бацилл – антагонистов определенных фитопатогенных бактерий и грибов.

В работе использовали штаммы бацилл, выделенные из почвы различных климатических зон Украины, коллекционные тест-культуры фитопатогенных бактерий родов *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, *Xanthomonas*, *Clavibacter*, *Agrobacterium*, 8 актуальных штаммов *Pseudomonas syringae*, выделенных из инфицированных злаковых культур, а также актуальные фитопатогенные микромицеты родов *Fusarium* и *Bipolaris*, выделенные с зерновых культур. Антагонизм к бактериям изучали на картофельном агаре по Егорову, к грибам – на картофельно-глюкозном агаре методом отсроченного антагонизма.

Установлено, что из выделенных термоустойчивых микроорганизмов 64% (100) штаммов относились к роду *Bacillus*. Из них только 30% проявляли средний уровень антагонизма к фитопатогенным микромицетам рода *Fusarium*. Также 18% исследованных штаммов обладали высокой антагонистической активностью по отношению к *B. sorokiniana*.

Антагонистическая активность бацилл в отношении тест-культур фитопатогенных бактерий зависит от родовой принадлежности последних. Так, в 48 и 57% случаев бациллы подавляли рост *X. campestris* и *P. carotovorum* соответственно, в 21% случаев – проявляют высокий уровень антагонизма по отношению к *A. tumefaciens*, в 4% – средний уровень антагонизма по отношению к *P. fluorescens*. Антагонистическая активность бацилл носит штаммоспецифичный характер и проявляется по бактериостатическому типу на среднем и высоком уровне по отношению к 2 из 8 актуальных штаммов *P. syringae*. Следует отметить, что 11% исследуемых штаммов бацилл проявляют среднюю антагонистическую активность в отношении как фитопатогенных бактерий, так и грибов.

Таким образом, в результате проведенного скрининга отобраны штаммы бацилл с наиболее широким спектром антагонизма по отношению к исследованным фитопатогенам. Молекулярно-генетический анализ штаммов *Bacillus* sp. показал, что их геномы содержат гены трех фенгицинсинтетаз, принимающих участие в синтезе фенгицинов – антибиотиков липопептидной природы. Роль данных антибиотических соединений в проявлении антагонистической активности к фитопатогенам, а также в индукции защитных реакций у растений – предмет наших дальнейших исследований.

**ПРОДУКУВАННЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА АЗОТУ
В ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИНАХ ЗА ДІЇ ФУЛЕРЕНУ C₆₀**

*ГРИНЮК І. І., ПРИЛУЦЬКА С. В., ФРАНСКЕВИЧ Д. В.,
ГРЕБІНИК А. Г., МАТИШЕВСЬКА О. П.*

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: igrynyuk@yahoo.com*

Активні форми кисню (АФК) та азоту відіграють важливу роль у регуляції таких біологічних процесів, як ріст та диференціація клітин, передача сигналів у регуляторних системах, індукція апоптозу. Однак надмірна продукція АФК та азоту призводить до активації процесів вільнорадикального переокислення та спричинює каскад негативних реакцій та патологічних змін, які лежать в основі багатьох захворювань людини та тварин. Модулятором про-/антиоксидантної рівноваги може виступати вуглецева наноструктура фулерену C₆₀, яка через наявність кон'югованої системи подвійних зв'язків здатна взаємодіяти з вільними радикалами та нейтралізувати їх, а за умови фотозбудження – генерувати активні форми кисню.

Метою роботи було оцінити продукування активних форм кисню та нітрит-аніона (NO₂⁻), як стабільного метаболіту оксиду азоту, активність антиоксидантних ензимів та NO-синтази у трансформованих клітинах (лейкозу L1210 та асцитної карциноми Ерліха) за дії фулерену C₆₀ та комбінованої дії C₆₀ і опромінення.

Вміст АФК визначали за допомогою флуоресцентного зонда 2,7-дихлорфлуоресцеїну діацетату. Вміст нітрит-аніонів (NO₂⁻) визначали в безпротеїнових аліквотах проб із реактивом Грісса. Активність антиоксидантних ензимів (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази та NO-синтази визначали в лізатах клітин спектрофотометрично. Клітини преінкубували упродовж 1 год у присутності фулерену C₆₀ (10⁻⁵ М), опромінення здійснювали дейтерієво-ртутною лампою (32–600 нм). Стабільні водні колоїдні розчини фулеренів C₆₀ чистотою > 99,5% було отримано у Технічному університеті м. Ільменау (ФРН).

Виявлено посилення продукції АФК після комбінованої дії фулерену C₆₀ і опромінення у клітинах порівняно з контролем із одночасним значним посиленням супероксиддисмутазної активності та зниженням активності глутатіонзалежних ензимів. Одержані дані свідчать про спричинене фотозбудженнями фулеренами C₆₀ прискорення реакцій вільнорадикального окислення з утворенням супероксиду, підвищення внутрішньоклітинного вмісту пероксиду водню та органічних гідропероксидів, розбалансування першої та другої ліній антиоксидантного захисту трансформованих клітин.

Показано порушення в системі NO-гомеостазу в лейкомічних клітинах за дії фулерену C₆₀ та комбінованої дії C₆₀ і опромінення. У клітинах, оброблених фулереном C₆₀, виявлено посилення продукування NO₂⁻ та активності індукцибельної NO-синтази. В умовах фотозбудження C₆₀ показники зростають ще більшою мірою на фоні зниження активності конститутивної форми NO-синтази.

Таким чином, продемонстровано порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу та NO-гомеостазу в трансформованих клітинах за дії фотозбудженого фулерену C₆₀, зумовлене впливом вуглецевої наноструктури як на активність регуляторних ензимів, так і на внутрішньоклітинний вміст активних форм кисню та азоту.

Робота виконана за підтримки гранту НАН України «Нові нановуглецеві матеріали для спрямованої дії на онкотрансформовані клітини» (№ д/р 0110U005962).

МОНОСАХАРИДНИЙ СКЛАД ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ *Ralstonia solanacearum*

ГРИЦАЙ Р. В.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: r.v.gritsay@gmail.com*

Ralstonia solanacearum – бактеріальний агент, здатний вражати судинну систему широкого кола рослин. Одним із ключових факторів патогенності на початкових етапах є ліпополісахариди (ЛПС) – основні антигени грамнегативних бактерій. З одного боку, підтверджено роль структури їх О-специфічного полісахариду (ОПС) в молекулярній взаємодії з рецепторами поверхні рослинних клітин, та в процесі запуску каскаду механізмів рослинного імунітету, з іншого – вуглеводна частина ЛПС, що виступає в зовнішній простір, служить бар'єром на шляху антимікробних сполук у середину бактеріальної клітини.

Для представників роду *Ralstonia* характерними є наявність рамнози як в складі олігосахариду кора, так і О-полісахаридного ланцюга, а також одночасна присутність О-полісахаридів декількох типів структур у межах одного штаму. При цьому співвідношення рамнози і глюкози в складі олігосахариду кора коливається в доволі широких межах. Переважаюча група штамів *R. solanacearum* містить лінійні або розгалужені О-полісахаридні ланцюги, в яких послідовність LRha-LRha-LRha-GlcNAc є основним мотивом, а як латеральні замісники може виступати рамноза або ксилоза.

У роботі використовували препарати ЛПС, виділені з 8 штамів *R. solanacearum* різного географічного походження. Спільними моносахаридами для всіх досліджуваних штамів виявилися глюкоза та глюкозамін. Основні відмінності між досліджуваними препаратами стосувалися вмісту (чи наявності) рамнози, фукози та галактози.

Враховуючи відсутність рамнози та ксилози в складі ЛПС *R. solanacearum* шт. 758 та 7954, можна припустити неповноцінність їхніх ОПС. У наших попередніх дослідженнях ці штами було об'єднано в одну серогрупу, звідки можна зробити висновки про можливу обумовленість їх серологічної спорідненості епітопами олігосахариду кора. Факт про неповну серологічну реактивність *R. solanacearum* штамів 7954, 4, 35, 526 та 749, також може свідчити на користь доступності епітопів олігосахариду кора S-форм ЛПС для взаємодії з антитілами.

Штами українського походження, що були об'єднані в одну серогрупу (4 і 526), відрізняються від шт. 35, що не увійшов до жодної із серогруп, наявністю галактози, а також меншим вмістом глюкози (35,0 і 25,9% проти 91,6% відповідно). У свою чергу *R. solanacearum* шт. 7954 і 758, що теж належить до однієї серогрупи, достатньо різняться за моносахаридним складом ЛПС, однак вони є єдині, в яких не вдалося ідентифікувати рамнозу.

Таким чином, нами вивчено моносахаридний склад ЛПС 8 штамів *R. solanacearum*, ізольованих із різних географічних зон і які є представниками різних серологічних груп.

КЛАСТЕРИЗАЦІЯ ШТАМІВ *Ralstonia solanacearum* ІЗ РІЗНИМИ ТИПАМИ СТРУКТУР ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ НА ОСНОВІ RAPD-ПЛР АНАЛІЗУ

ГРИЦАЙ Р. В.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: r.v.gritsay@gmail.com*

Ralstonia solanacearum – складний комплексний вид, який об'єднує в собі грамнегативні бактерії, здатні спричинювати бактеріальне в'янення у більш ніж 200 видів вищих рослин. Це один із найдеструктивніших рослинних патогенів, що зустрічається майже на всіх континентах і є ка-

рантинним об'єктом. З моменту свого відкриття таксономічне положення збудника змінювалось і продовжує уточнюватися. Згідно з останньою класифікацією в межах виду *R. solanacearum* виділяють чотири філотипи, кожен з яких відповідно поділяється на секвевари. На побудованому таким чином філогенетичному дереві, генетичні дистанції між окремими гілками сягають більше 25%, що підштовхує дослідників до необхідності дроблення таксону на декілька окремих видів.

На основі вивчення особливостей хімічної будови ліпополісахаридів низки штамів *R. solanacearum* встановлено існування 7 можливих типів структур О-полісахариду (ОПС). За допомогою перехресних імунохімічних реакцій між досліджуваними штамми їх вдалося об'єднати в п'ять серогруп. При цьому хімічна структура ЛПС декількох штамів радикально відрізняється від більшості. Кореляції між структурою ОПС і належністю штаму до певного біовару чи рослини-хазяїна або географічної зони, з якої цей штам походить, не виявилось. Встановлення генетичних дистанцій між серотипами *R. solanacearum* раніше не проводилось.

В нашій роботі генетична спорідненість між 11 штамми *R. solanacearum* різного географічного походження вивчалася на основі ПЛР довільно ампліфікованих послідовностей (RAPD).

Сумарним продуктом ПЛР ДНК 11-ти штамів *R. solanacearum* із праймерами BL26, OPD04, OPG08 стали 52 фрагменти, молекулярна маса яких знаходиться в діапазоні 55–2700 нуклеотидних пар (п.н.). Спільні для двох і більше зразків продукти реакції становлять трохи більше 55% від загальної кількості смуг. Жоден із ампліконів не є мономорфним, що свідчить про значну генетичну гетерогенність в межах досліджуваної групи штамів. Побудовану за результатами RAPD-аналізу дендрограму представлено двома основними кластерами. Штами 749 і 4157, характеризуються утворенням малої кількості ампліконів, тому розташовуються окремо, з низькими значеннями генетичної спорідненості. Мала ефективність ампліфікації їхньої ДНК може бути пов'язана із підвищеним вмістом полісахаридів, які є інгібіторами ДНК-полімерази.

У першому кластері виділяється дві підгрупи: одна з них утворена *R. solanacearum* штамми 7859, 7944 і 7864 – представниками біовару 1, до якого належить і 5712, що виділяється окремою гілкою в кластері. Друга підгрупа об'єднує *R. solanacearum* шт. 8202 (біовар 4) і шт. 4 із невстановленими фізіологічними властивостями. Другий кластер містить *R. solanacearum* штамми 8089, 7954 (біовари 3 і 2, відповідно) і 35.

Таким чином, проведена RAPD-ПЛР дає змогу здійснити кластеризацію 9 штамів *R. solanacearum*. Згідно з отриманими результатами, штамми першого біовару виявляють генетичну спорідненість.

ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ α -L-РАМНОЗИДАЗЫ *Eupenicillium erubescens*

ГУДЗЕНКО Е. В., БОРЗОВА Н. В., ВАРБАНЕЦ Л. Д.

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;
e-mail: ov_gudzenko@bigmir.net*

α -L-Рамнозидаза (3.2.1.40) – гликозил-гидролаза, которая гидролитически отщепляет концевые невосстановленные α -1,2-, α -1,4- и α -1,6-связанные остатки L-рамнозы в α -L-рамнозидах. Данный энзим находит применение в таких областях как пищевая, фармацевтическая и химическая промышленность. В пищевой промышленности α -L-рамнозидазы используют для улучшения качества напитков (уменьшения горечи соков, усиления аромата вин) и производстве пищевых добавок, в фармацевтической – для получения лекарственных препаратов, а также их предшественников, в химической – для производства рамнозы. Для успешного использования энзимов прежде всего необходимо решить задачу стабилизации активности этих биокатализаторов. Изучение термостабильности протеиновой молекулы в различных условиях – важный аспект в получении эффективных препаратов для успешного применения. Целью работы было изучить влияние ионной силы на термостабильность α -L-рамнозидазы, полученной из супернатанта культуральной жидкости *Eupenicillium erubescens*

фракціонуванням сульфатом амонія, хроматографією на TSK-гелях Toyopearl HW-60, Fractogel DEAE-650-s, Sepharose 6B. Оскільки механізми термоінактивації проявляються прежде всего в температурному діапазоні, близькому до термооптимуму дії ферменту, було вивчено положення термооптимуму α -L-рамнозидази *E. erubescens*. Показано, що термооптимум дії ферменту досягається при 60 °С, тому вивчення термоінактивації проводили в діапазоні температур 50–65 °С при рН 5,0.

Важну роль в стабільності протеїнів можуть грати електростатичні взаємодії між іонами розчинника і зарядженими групами молекули ферменту. Для вивчення впливу електростатичних взаємодій на стабілізацію грибною α -L-рамнозидазою *E. erubescens* було вивчено процес термоінактивації ферменту в розчинах з різною іонною силою. При варіюванні концентрації фосфатно-цитратного буфера від 0,01 до 1,0 М (рН 5,0) спочатку спостерігається зменшення стабільності ферменту, що можна пояснити підвищенням діелектричної проникності середовища і ослабленням електростатичних взаємодій. Однак при великих концентраціях розчину стабільність знову починає зростати внаслідок гідрофобних взаємодій. Близький до симетричного вигляд залежності свідчить про приблизно рівний внесок гідрофобних і електростатичних взаємодій в стабілізацію цього ферменту. При вивченні термоінактивації α -L-рамнозидази *E. erubescens* в розчинах NaCl від 0,025 М до 4,5 М (0,01 М фосфатно-цитратний буфер, рН 5,0) спостерігається експоненціальний ріст константи термоінактивації при підвищенні концентрації солі. Можливо, це пов'язано з тим, що хлорид-іон значно менше фосфат-іону і при великих концентраціях здатний проникати всередину протеїнової глобули, викликаючи сильну дестабілізацію ферменту.

Вивчення термоінактивації α -L-рамнозидази *E. erubescens* при різних концентраціях субстрату (нарингіна) показало, що спочатку спостерігається дестабілізація ферменту, потім невелика стабілізація, а при концентраціях субстрату більше 3 мМ спостерігається експоненціальне падіння стабільності.

Таким чином, отримані дані підтверджують важливу роль гідрофобних взаємодій в стабільності ферменту *E. erubescens*, а з іншого боку свідчать про те, що при концентраціях нарингіна до 3 мМ, т.е. тих, які можна використовувати на практиці, дестабілізація α -L-рамнозидази *E. erubescens* не відбувається.

ЗДАТНІСТЬ ШТАМІВ БАКТЕРІЙ РОДУ *Bacillus*, ВИЛУЧЕНИХ ІЗ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ о. ЗМІЙНИЙ, ПРОДУКУВАТИ БІОСУРФАКТАНТИ

*ГУДЗЕНКО Т. В., ВОЛЮВАЧ О. В., БСЛЯЄВА Т. О.,
КОНУП І. П., БУХТІЯРОВ А. Є., ЛІСЮТИН Г. В.,
ГОРШКОВА О. Г., ПУЗІРЬОВА І. В., ДІМОВА М. І.*

*Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Україна;
e-mail: 7872930@mail.ru*

Інформація про здатність нафтоокислювальних мікроорганізмів продукувати біосурфактанти є дуже важливою в прикладному аспекті, оскільки розширює межі їх використання, особливо в біотехнології очищення ґрунтів із хронічним нафтовим забрудненням. Метою роботи було визначення здатності бактерій роду *Bacillus*, вилучених із забрудненого нафтою ґрунту острова Зміїний, продукувати біосурфактанти.

Об'єктами дослідження слугували ґрунтові мікроорганізми, ізольовані нами навесні 2013 р. з ділянок нафтозабрудненого ґрунту о. Зміїний та ідентифікованих як штами *Bacillus* sp. 17 (ділянка № 1), *Bacillus* sp. 22 і *Bacillus* sp. 24 (ділянка № 2).

Здатність бактерій продукувати біосурфактанти залежно від тривалості культивування і складу гідрофільного поживного середовища оцінювали за появою поверхнево-активних властивостей бактеріальних суспензій (БС). Культивування бактерій проводили на поживному середовищі М-9 (рН = 7,0 ± 0,2) в присутності пептону і дріжджового екстракту (М-9 (I)) та за їх відсутності (М-9 (II)) протягом 3 і 5 діб при температурі 27 ± 1 °С. З метою визначення типу біосурфактантів – позаклітинних або клітиннозв'язаних, клітини відділяли центрифугуванням та вимірювали за допомогою методу Вільгельми (точність ±0,5 мДж/м²) поверхневий натяг бактеріальних суспензій та супернатантів. В усіх випадках вимірювання значень поверхневого натягу (σ , мДж/м²) проводили відносно контролю – поживного середовища (ПС) за відсутністю мікроорганізмів.

Внаслідок досліджень вперше експериментально визначено, що штами бактерій роду *Bacillus* здатні продукувати біологічні поверхнево-активні речовини на гідрофільних збагаченому та збідненому ПС відповідно М-9 (I) та М-9 (II). Вони також продемонстрували позитивний тест на здатність емульгувати. Встановлено, що рівноважні значення поверхневого натягу бактеріальних суспензій, культивованих з різним проміжком часу, і супернатантів устанавлюється не менше 2 год. Для контролів М-9 (I) та М-9 (II) значення поверхневого натягу становить відповідно 51,2 мДж/м² і 67,94 мДж/м². Зафіксовано, що штам *Bacillus* sp. 24 протягом 5 днів здатен продукувати біосурфактанти лише на ПС М-9 (II). Оскільки значення σ супернатанту приблизно дорівнює значенню σ (БС) і становить 52,32 мДж/м², то можна віднести біосурфактанти до екзогенного типу. Штами *Bacillus* sp. 17 і *Bacillus* sp. 22 на середовищі М-9 (II) значно більшою мірою продукують біосурфактанти ($\Delta \sigma \approx 19,7$ мДж/м²), ніж на середовищі М-9 (I) ($\Delta \sigma \approx 8,0$ мДж/м²), причому тип їх змішаний з переважною часткою позаклітинних біосурфактантів для штаму *Bacillus* sp. 22 і трохи переважною часткою клітиннозв'язаних біосурфактантів для *Bacillus* sp. 17. Так, для штаму *Bacillus* sp. 17 на М-9 (II) значення σ супернатанту дорівнює 56,31 мДж/м², σ (БС) = 48,27 мДж/м² за σ (М-9 (II)) = 67,94 мДж/м².

На підставі одержаних результатів досліджень можна дійти висновку про те, що досліджувані штами *Bacillus* sp. 17, *Bacillus* sp. 22 і *Bacillus* sp. 24 найактивніше продукують біосурфактанти на мінеральному поживному середовищі М-9 (II).

C-DOTS APPLICATION IN LIVING CELLS EXPERIMENTS

DEKALIUK M. O., PYRSHEV K. A., DEMCHENKO A. P.

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

Unusual optical properties of carbon nanomaterials have attracted the attention of many researchers. Fluorescent carbon nanoparticles are broadly variable structures that include short fragments of graphene, graphene oxide and nanotubes and also the 'carbon dots' (C-dots). Their fluorescence emission is typically concentrated in the blue and green ranges of spectra and positions of their band maxima often depend on the wavelength of excitation, suggesting the evidence for the presence of multiple fluorophores. They demonstrate the presence within the nanoparticles of distribution of individual emitters that do not exchange their excited-state energies via FRET mechanism. The studies of time-resolved anisotropy reveal the sub-nanosecond intraparticle mobility of these fluorophores that is retarded in viscous medium, and the quenching experiments demonstrate their location at nanoparticle surface. Thus, C-dots appeared as the promising approach prospective for cells experiments.

The aim of this research was to study interactions between the cells and C-dots.

In present work, the cell experiments were performed with U2OS (human osteosarcoma) and U937 (monocytes leukemia) cell lines. For demonstrating the cell-C-dots interactions, the U2OS cells were incubated with C-dots during 30 min and, after twice washing with PBS, the wide field fluorescent microscopy was applied. The microscopy data of living U2OS cells showed heterogeneous distribution of the C-dots predominantly over the one side of the nucleus. It was observed that the cells do not accumulate the C-dots into

lysosomes (the light spots in the cytoplasm were not found) suggesting their easy penetration through plasma membrane and even distribution in cytoplasm. Moreover, the staining with C-dots did not influence the cell morphology offering broad perspectives in microscopy application. To validate the cytotoxicity effect, the U937 cells were incubated with or without (control group) high concentrations of C-dots during 24 and 48 h. As the positive control for cytotoxicity effect the Actinomycin D (24 h) and IPA-3 (48 h) were applied. After respective incubation period, the cells were stained with GFP-Annexin V and the flow cytometry was applied. As the result, the cells treated with C-dots showed the distribution similar to intact cells as evidenced by the light scattering and phosphatidylserine exposure. However, IPA-3 and Actinomycin D treated cells share all the features of apoptosis.

Thus, due to simple and cheap synthesis and stability in aqueous medium, high photostability, the absence of toxicity and multiple possibilities for their chemical modifications, the carbon nanoparticles can be efficiently used in various fields of science. They promise to be a new tool for cell biology.

НАНОЧАСТИНКИ ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ ЯК СТИМУЛЯТОР РОСТУ І РОЗВИТКУ РОСЛИН ГРЕЧКИ

¹ДЕМЧЕНКО О. А., ¹ЮЗВЕНКО Л. В., ¹ЩЕРБАКОВ А. Б., ²БОЙКО А. Л.

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: spivak-spivak-n@ua.ru;

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна

Золі наночастинок діоксиду церію CeO_2 характеризуються стійкістю та здатністю зворотно брати участь в окисно-відновних процесах. Наявність кисневої нестехіометрії в наночастинок CeO_2 і, як наслідок, здатність брати участь в окисно-відновних реакціях є ключовим чинником, що обумовлює їхні унікальні фізико-хімічні властивості, які визначають біологічну активність цього матеріалу.

Розробка інноваційних підходів у сільському господарстві з метою підвищення врожайності культур має першочергове значення. Серед цінних круп'яних культур важливе місце займає гречка, що характеризується високими харчовими і смаковими якостями. В біології гречки звичайної є низка особливостей, які ускладнюють її вирощування: низьке зав'язування плодів при рясному утворенні квітів, а також одночасне проходження кількох фаз онтогенезу. Основними показниками, які характеризують технологічну цінність зерна гречки, є плівчастість, великий розмір, вирівняність і форма зерна, вихід крупи та її поживні якості тощо. У зв'язку з цим, нами було проведено модельні спостереження за ростом і розвитком рослин гречки сорту Вікторія, після обробки насіння золями наночастинок діоксиду церію.

Показано, що рослини з насіння, обробленого наночастинками, значно випереджали в розвитку та перевищували в зростанні контрольні рослини. Передпосівна обробка насіння золем наночастинок діоксиду церію CeO_2 (0,01 М) змінює технологічні властивості одержаного зерна, підвищуючи масу насіння та знижуючи їх плівчастість.

Таким чином, використання інноваційних нанотехнологій дозволяє покращувати біологічні властивості рослин, а, отже, збільшувати продуктивність сільськогосподарського виробництва.

ВИКОРИСТАННЯ НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЯЄЧНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ КУР-НЕСУЧОК

¹ДЕМЧЕНКО О. А., ¹СПИВАК М. Я., ¹ЖОЛОБАК Н. М., ¹ЩЕРБАКОВ О. Б.,
³ІВАНОВ В. К., ²ШАДУРА Ю. М., ²БІТЮЦЬКИЙ В. С., ²МЕЛЬНИЧЕНКО О. М.

¹Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України Київ;
²Білоцерківський національний аграрний університет, Україна;
³Інститут загальної та неорганічної хімії ім. М. В. Курнакова РАН, Москва;
e-mail: N.Spivak@ukr.net

У сучасному птахівництві однією з актуальних проблем є активація адаптаційних можливостей птиці з метою підвищення рівня їх продуктивності та збереження. В умовах промислового утримання змінюються природні умови існування птахів, порушується гомеостаз, що призводить до посилення перебігу процесів пероксидації, зниження активності системи антиоксидантного захисту (АОЗ) організму птиці та гальмування процесів росту, погіршення якості продукції. В організмі птиці на початку та в період становлення яйцекладки зростає інтенсивність обмінних процесів. У цей період відбувається активація системи АОЗ, яка бере участь у знешкодженні активних форм кисню, що утворюються внаслідок інтенсивного функціонування дихального ланцюга мітохондрій.

Нанокристалічний діоксид церію (НДЦ) – унікальний поліфункціональний матеріал, перспективність використання якого в багатьох наукових галузях пов'язана з комплексом особливих фізико-хімічних властивостей, що включають кисневу нестехіометрію, потужні антиоксидантні властивості, а також залежність одержаних ефектів від розміру частинок.

Мета роботи – вивчення впливу нанокристалічного діоксиду церію (розмір частинок $1 < n < 5$ нм, стабілізованих цитратною оболонкою) на метаболічні показники, яєчну продуктивність, якість продукції та збереженість птиці. Дослідження дії НДЦ було проведено на курах-несучках кросу «Lohmann Brown».

За результатами досліджень встановлено, що за введення НДЦ рівень сечової кислоти, кінцевого продукту обміну протеїнів у птиці вірогідно не змінюється. Оцінюючи характер змін активності індикаторних ензимів у сироватці крові курей-несучок за введення НДЦ, встановлено тенденцію до зниження активності АлАТ та АсАТ на всіх термінах дослідження. Вивчаючи динаміку активності ГГТ, не встановлено вірогідних змін протягом усього дослідного періоду, що вказує на відсутність порушення функціонального стану печінки. Аналізуючи зміни окремих біохімічних показників крові курей-несучок дослідної групи, слід зауважити, що вміст загального протеїну, креатиніну, триацилгліцеролів та холестеролу істотно не змінюється порівняно з аналогічними показниками в контрольній групі.

Яйця курей дослідної групи характеризуються більшою товщиною шкаралупи й її щільністю, від чого залежить збереження яєць за їх відбору і транспортування, індекс форми яйця залишається в межах стандартних розмірів, які визначають максимальну виводимість. Застосування НДЦ для несучок зумовлює підвищення біодоступності і депонування в жовтку яєць каротину ($P < 0,01$), що позитивно впливає на інкубаційні якості яєць. Встановлено вищий і триваліший пік продуктивності курей-несучок і її інтенсивність.

Таким чином, доведено, що впоювання курям-несучкам нанокристалічного діоксиду церію позитивно впливає на їхню яєчну продуктивність, якість яєць та збереженість птиці. У застосованій дозі наночерієв не акумулюється в яйцях і паренхіматозних органах птиці.

**ПРОБІОТИЧНІ ТА ТЕХНОЛОГІЧНІ
ВЛАСТИВОСТІ ТАНАЗО-ПОЗИТИВНОГО ШТАМУ
Lactobacillus plantarum MTCC 2621**

¹ДЗЮБА О. С., ¹ОРЯБІНСЬКА Л. Б., ²ПРАСАННА Б. Д.

¹Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут»;
e-mail: oksana.dziuba86@gmail.com;

²Національний технологічний інститут штату Карнатака, Індія

Основною групою мікроорганізмів, що застосовуються у складі сучасних пробіотиків та продуктів функціонального призначення є молочнокислі бактерії р. *Lactobacillus*. Вони є невід'ємним компонентом мікроекологічних систем здорових людей з підтвердженим статусом «GRAS» (звичайно безпечних). Натепер документовано позитивні ефекти пробіотиків на основі лактобактерій в профілактиці та лікуванні захворювань шлунково-кишкового тракту та інших органів і систем органів макроорганізму. Перспективними пробіотиками можна вважати лактобактерії, що виявляють антиоксидантні властивості. Штам *Lactobacillus plantarum* MTCC 2621, отриманий з колекції мікроорганізмів та банку генів (Microbial Type Culture Collection and Gene Bank, MTCC), здатний розщеплювати таніни, які містяться в низці харчових продуктів, до глюкози та галової кислоти. Остання, як відомо, не тільки бере участь у механізмах антиоксидантного захисту, але й підвищує імуномодельовальну активність макроорганізму за рахунок активації синтезу інтерферону та імунокомпетентних клітин.

За вивчення пробіотичних властивостей досліджуваної культури встановлено, що вона пригнічує розвиток низки сапрофітних та умовно патогенних ентеробактерій. Антагоністична активність, ймовірно, здійснюється за рахунок синтезу молочної кислоти, оскільки лізоцимсинтезуючу активність, що притаманна деяким видам лактобактерій, у *L. plantarum* MTCC 2621 не встановлено. Рівень кислотоутворення штаму на 24-ту год становить $47 \pm 0,9$ °Т; 48-му год – $168 \pm 1,2$ °Т; 72-гу год – $188 \pm 1,3$ °Т та 96-ту год – $192 \pm 1,7$ °Т. Важливим критерієм оцінки пробіотичних властивостей транзиторної мікрофлори є здатність її до адгезії на клітинах епітелію кишечника. Культура *L. plantarum* MTCC 2621 виявляє високу клітинну адгезивність з індексом $7,07 \pm 0,39$. Штам резистентний до шлункового соку та жовчних кислот. У фізіологічних концентраціях продукти метаболізму штаму не виявляють цитотоксичної дії, що встановлено на моделі клітинної лінії Нер-2.

Антибіотикограма дозволила встановити резистентність клітин штаму до препаратів пеніцилінового ряду (бензилпеніциліну та оксацикліну) і чутливість до макролідів, тетрациклінів і аміноглікозидів. Лактобактерії виявляють стійкість і до деяких хіміотерапевтичних препаратів групи фторхінолонів (цепрофлоксацину, енрофлоксацину), механізм дії яких пов'язаний з блокадою ензимів ДНК-гірази та топоізомерази.

Одним з основних факторів, який визначає можливість виробничого виготовлення мікробіологічних препаратів, є підбір виробничого поживного середовища із врахуванням фізіологічних потреб відібраних штамів бактерій та їхньої біосинтетичної активності. Встановлено, що штам *L. plantarum* MTCC 2621 виявляє найвищу інтенсивність росту та таназну активність на середовищі із глюкозою ($5,008 \pm 0,214$ мг/мл і $0,024 \pm 0,001$ U/мл – на 24-ту год та $7,118 \pm 0,15$ мг/мл і $0,051 \pm 0,002$ U/мл – на 48-му год відповідно), а найнижчу – з фруктозою ($3,549 \pm 0,156$ мг/мл і $0,016 \pm 0,001$ U/мл – на 24-ту год та $4,536 \pm 0,126$ мг/мл і $0,029 \pm 0,001$ U/мл – на 48-му год відповідно). Як оптимальні умови встановлено такі параметри культивування: рН 5,7 та температура вирощування – 37 °С.

Одержані результати свідчать про перспективність подальших досліджень для створення технології ефективного пробіотичного препарату з антиоксидантною дією.

МЕТОДОЛОГІЯ ОЦІНКИ БІОБЕЗПЕКИ НАНОМАТЕРІАЛІВ

*ДИБКОВА С. М., РЄЗНІЧЕНКО Л. С., ГРУЗІНА Т. Г.,
ЧЕКМАН І. С., УЛЬБЕРГ З. Р.*

*Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України, Київ;
e-mail: sdybkova@gmail.com*

Впровадження наноматеріалів у різні галузі господарства потребує глибокого та всебічного вивчення потенційних ризиків, пов'язаних із їх використанням. Наразі наноматеріали знаходять все ширше застосування в медичній практиці, причому як індивідуальні нанопрепарати, так і компоненти комплексних фармакологічних препаратів. До наноматеріалів умовно відносять матеріали, що містять структурні елементи, розміри яких не перевищують 100 нм і мають якісно нові функціональні характеристики. Існує потреба в обґрунтуванні підходів щодо оцінки безпеки наноматеріалів, оскільки збільшення/зменшення їх токсичності зумовлене такими властивостями наноматеріалів як розмір, поверхневий заряд, площа вільної поверхні, функціоналізація поверхні та інші.

В Україні наразі відсутні чинні загальнодержавні нормативно-правові акти, які регламентують виробництво та застосування наноматеріалів і продуктів на їх основі. Тому створення, гармонізація та впровадження нормативно-правової та методичної документації щодо оцінки біологічної безпеки наноматеріалів на етапах розробки, експертизи та державної реєстрації такої продукції набуває загальнодержавного значення.

Групою науковців Інституту біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України, ДУ «Інститут медицини праці НАМН України» та Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця з метою реалізації єдиного, науково-обґрунтованого підходу до оцінки безпеки наноматеріалів медичного призначення – нанопрепаратів – розроблені методичні рекомендації «Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів». Методичні рекомендації затверджено на засіданні Науково-експертної ради Державного експертного центру МОЗ України (протокол № 8 від 26.09.2013р.).

Методичні рекомендації використовуються для оцінки потенційного ризику використання нанопрепаратів із застосуванням модельних біологічних тест-систем: культур пробіотичних та умовно патогенних мікроорганізмів, компонентів еукаріотичних клітин, культур клітин людини та тварин, організмів лабораторних тварин. Встановлення потенційних ризиків використання нанопрепаратів є визначальним етапом в оцінці їх біобезпеки, яке має передувати класичним токсикологічним тестуванням. За відсутності стандартизованих індикаторів токсичності нанопрепаратів, адекватна оцінка їх потенційного ризику можлива за використання системи методів, в основі яких лежать найчутливіші до небезпечної дії характеристики живого організму – системні біомаркери: генотоксичність; мутагенність; цитотоксичність, загальний фізіологічний стан організму; стан мікрофлори шлунково-кишкового тракту; біохімічні біомаркери; імунотоксичність.

У «Методичних рекомендаціях» запропоновано адекватний алгоритм проведення оцінки потенційної небезпеки нанопрепаратів. Такий алгоритм враховує способи введення нанопрепарату в живий організм, ідентифікацію досліджуваного нанопрепарату в живих клітинах та органах із метою пошуку потенційних небезпечних проявів нанопрепарату саме на клітинному та органному рівнях. За використання такого алгоритму дослідження безпеки нанопрепарату встановлюють рівень його потенційної небезпеки, що дозволяє визначитися з подальшим об'ємом нормативно-регламентованих токсикологічних досліджень. Апробована система методів тестування, представлених в «Методичних рекомендаціях», засвідчила свою ефективність, і може скласти основу нормативно-методичної бази токсикологічної оцінки нанопрепаратів в Україні.

НОВІ ФЛУОРЕСЦЕНТНІ БАРВНИКИ ДЛЯ ВІЗУАЛІЗАЦІЇ КВАДРУПЛЕКСНОЇ ДНК В ГЕЛІ

¹ДІДАН Ю. В., ²КРИВОРОТЕНКО Д. В., ²НЕГРУЦЬКА В. В., ²ДУБЕЙ І. Я.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;

e-mail: dubey@imbg.org.ua

G-квадруплекси (G4) – це специфічні чотириланцюгові структури, утворені певними гуанінзбагаченими послідовностями нуклеїнових кислот. За аналізу геному людини виявлено близько 300 000 послідовностей, що теоретично здатні формувати квадруплексні структури. Такі послідовності знаходяться в першу чергу в теломерній ДНК та промоторних ділянках багатьох протоонкогенів. Неканонічні G4-форми ДНК залучені в численні клітинні процеси, зокрема, в регуляцію транскрипції та синтезу теломер і стабілізацію останніх, що робить їх потенційними мішенями для протиракової терапії. Так, сполуки, що селективно зв'язуються з G4-структурами теломерної ДНК, здатні інгібувати активність теломерази і часто виявляють протипухлинну дію. Детекція квадруплексних форм ДНК є необхідним елементом будь-яких досліджень квадруплексів та їхньої взаємодії з лігандами.

Ціанінові барвники належать до одного з найбільших класів флуоресцентних сполук для детекції нуклеїнових кислот. SYBR Green I, DODC, TO-PRO-3 та інші похідні TO (Thiazole Orange) – загальновідомі представники класу барвників, що застосовуються для візуалізації нуклеїнових кислот.

Запропоновані нами амінозаміщені похідні лепідинового оранжевого (LO) структурні аналоги ціаніну TO є ефективними барвниками для флуоресцентної детекції нуклеїнових кислот. Попередньо було показано, що похідні LO не поступаються комерційним реагентам серії SYBR Green за чутливістю флуоресцентної детекції дуплексної ДНК та РНК в електрофоретичних гелях.

В роботі сполуки ряду LO було досліджено як флуоресцентні реагенти для візуалізації квадруплексної ДНК. Визначали їхню чутливість до G4-структур, одержаних за фолдінгу в особливих умовах олігонуклеотиду Tel22 (AGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG, фрагмент теломерної ДНК людини).

Похідні LO демонструють високу чутливість визначення квадруплексної ДНК у пікомолярному масштабі. Найефективнішим серед досліджених сполук є барвник LO1. Встановлено, що його зв'язування з G4-ДНК супроводжується зростанням інтенсивності флуоресценції більш ніж у 1000 разів. Крім того, LO1 має високу чутливість детекції таких структур в поліакриламідному гелі. Мінімальна кількість квадруплексної ДНК, яку можна визначити за допомогою LO1, становить всього 0,2 пмоль (1,5 нг). При цьому LO1 виявляє значно нижчу чутливість детекції одноланцюгової ДНК, що може свідчити про вибірковість зв'язування цього барвника з певними формами ДНК. Для LO1 спостерігається лінійна залежність між кількістю G4-ДНК та інтенсивністю флуоресценції в межах від 0,2 до 5 пмоль (1,5–35 нг Tel22), що вказує на можливість використання барвника для кількісного визначення G4-структур у цьому діапазоні. Водночас LO1 виявляє високу афінність до G4-ДНК (константа дисоціації його комплексу з Tel22 становить $8,7 \times 10^{-7}$ М).

Таким чином, барвник LO1 утворює стійкі флуоресцентні комплекси з G4-ДНК, демонструє високу чутливість детекції квадруплексної ДНК й має широкий діапазон лінійної залежності інтенсивності флуоресценції від кількості G4-ДНК у пробі. Це свідчить про можливість практичного застосування цього реагенту для флуоресцентної візуалізації квадруплексної ДНК в електрофоретичних гелях.

CLONING OF MURINE INTERFERON ALPHA IN *Escherichia coli* AND OPTIMIZATION OF ITS OUTPUT IN THE SOLUBLE FORM

DOTSENKO V., OBOLENSKAYA M.

*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: dotsdon@gmail.com*

Interferon alpha (IFN α) is a cytokine with antiviral, antiproliferative and immunomodulatory activities. It is widely used in treatment of viral hepatitis and hematological malignancies. Despite its efficiency it has side effects of unknown mechanism like depression, headache, fever, myalgia etc. The bioinformatical genome-wide search for target genes of IFN α conducted in our lab has revealed three new genes encoding the proteins of nervous synapses. We suggest the involvement of these genes in development of side effects of IFN α and intend to verify this idea.

Aim of the study is to clone the murine *IFN α* gene and express the protein in the sufficient amount for *in vitro* and *in vivo* experiments.

The amplified coding sequence of *mIFN α* , type 11 (BC116870) was inserted in the expression plasmid pET-24a(+) downstream of the IPTG-induced T7 promoter and cloned in Rosetta (DE3) *E. coli* cells. The basic cultivation medium: 30 mM NaCl, 7 mM NH₄Cl, 9 mM MgSO₄, 0.5% w/v Yeast extract, 1.1% w/v Tryptone, 0.2% w/v Glycerol. The basic lysis buffer: 25 mM HEPES pH 7.0, 500 mM NaCl, 10% w/v Glycerol, 0.025% w/v NaAzide, 0.5% w/v CHAPS, 10 mM MgCl₂. To optimize the output of soluble *mIFN α* 11 the fractional factorial design 2⁷⁻⁴ with resolution IV was applied. The effect of seven variables: T °C of cultivation (25–37 °C), pH of the medium (6.8–7.4), concentration of glucose (0–1% w/v), trehalose (0–200 mM) and glycine (0–200 mM) in the medium and glycine (0–200 mM) and CTAB (0–1% w/v) additives in the lysis buffer was explored. The amount, identity and proper folding of the soluble IFN α were controlled by 12% SDS-PAGE and the resistance of the Gasser's ganglion cells to the vesicular stomatitis virus. Statistical analysis was carried out in R statistical software (R version 2.8.0, <http://www.rproject.org>). The significant effect was considered at $P \leq 0.05$.

The IFN α output in dependence of seven variables may be described by multiple regression model $y = A+Bx_1+Cx_1^2+Dx_2+Ex_3+Fx_5+Gx_6+Hx_7$ with $R^2 = 0.91$, where $x_1 - x_7$ – tested variables, A - H – the corresponding effect. The statistically significant influence on the output had T °C of cultivation and the concentration of three carbohydrates in the medium while the optimal ones were 200 mM glycine added to the basic medium and cultivation at 25 °C. A 19 kDa protein similar to mature *mIFN α* 11 was identified in the initial homogenate and supernatant; both revealed a specific antiviral activity; the yield of the soluble *mIFN α* 11 consisted ~20 mg/L.

The fractional factorial design for optimization of the recombinant protein output is a useful approach saving the time and cost of experiment. The pET-24a(+)-*mIFN α* 11 recombinant is a promising construction for *mIFN α* 11 output in the soluble form and in appropriate amount for *in vitro* and *in vivo* experiments.

ТОКСИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ *Bacillus thuringiensis*

ДРЕГВАЛЬ О. А., ЧЕРЕВАЧ Н. В., ВІННИКОВ А. І.

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: microviro@rambler.ru*

Найрозповсюдженішими агентами мікробіологічного контролю чисельності комах-шкідників є грампозитивні спороутворюючі бактерії *Bacillus thuringiensis*. Інсектицидна активність та спектр дії цих бактерій значною мірою залежить від наявності параспоральних включень, які формуються під

час стаціонарної фази росту. Ці кристалічні включення містять δ -ендотоксини, які діють на личинки низки комах. Деякі штами *B. thuringiensis* здатні продукувати β -екзотоксин, що значно розширює спектр їх інсектицидної дії.

Метою роботи було визначення складу кристалічних включень ендотоксинів штамів *B. thuringiensis*, виділених із загиблих комах Придніпровського регіону, та дослідження їхньої здатності продукувати β -екзотоксин.

Склад кристалічних включень *B. thuringiensis* досліджували методом електрофорезу в поліакриламідному гелі з DSNa. Розчинення кристалічних протеїнів проводили у 0,01 М трис-НСІ-буфері (рН 8,5) з 8 М сечовиною, 10^{-2} М ДТЕ та 10^{-3} М ЕДТА при 100 °С протягом 5 хв. Кристалічні протеїни аналізували в 17,5–6,5% ПААГ-DSNa в трис-гліциновому буфері. Як маркерні протеїни було використано альбумін сироватки людини (97 кДа), бичачий сироваточний альбумін (67 кДа), овальбумін (43 кДа), цитохром С (12 кДа). Для встановлення здатності штамів продукувати β -екзотоксин культуральну рідину центрифугували при 6000 об./хв 10 хв, осад відділяли, а надосадну рідину випарювали при 70 °С до зменшення об'єму в 10 раз та автоклаували при 1,2 атм 15 хв. Визначення інсектицидної активності одержаної таким чином рідини проводили на личинках домашньої мухи.

Виявлено, що штам В-2 продукує кристалічні протеїни з молекулярною масою 96, 72, 58, 24, та 17 кДа, а штам В-10 – з молекулярною масою 129, 55, 25, 21, 17 кДа. До складу кристалів, що продукує штам В-2 входять протеїни з молекулярною масою 96 кДа та 72 кДа. Вважається, що кристалічні протеїни 66–73 кДа є специфічними до комах ряду *Coleoptera*. Штам В-10 продукує високомолекулярні протеїни з молекулярною масою ~ 130 кДа. Такі кристалічні протеїни, як правило, характерні для *B. thuringiensis*, активних до комах ряду *Lepidoptera*. Крім того, у штамів В-2 і В-10 виявлено кристалічні протеїни 58 та 55 кДа відповідно. Не виключено, що ці компоненти могли утворитися внаслідок протеолітичного розщеплення протеїнів із вищою молекулярною масою. Низькомолекулярні протеїни (17–25 кДа), які виявлено у штамів, можливо також є кристалічними. Вважається, що функція низькомолекулярних протеїнів полягає в участі у їх формуванні кристалу та підвищенні його токсичності.

Встановлено, що обидва штами здатні продукувати β -екзотоксин. Смертність личинок мух складала 77,5 та 85,0% від дії штаму В-2 та В-10 відповідно. Відомо, що до дії β -екзотоксину крім двокрилих комах чутливі також твердокрилі (колорадський жук, довгоносик), гусінь метеликів, бахромчастокрилі (трипси), рівнокрилі (попелиці), напівтвердокрилі (клопи) та павутинний кліщ. Перевірка інсектицидної активності виділених штамів по відношенню до комах-шкідників двох рядів *Coleoptera* (личинки колорадського жука) та *Lepidoptera* (гусінь листокрутки всеїдної) виявила, що штам В-2 характеризується високою активністю відносно колорадського жука (86,7% загибелі) та помірною відносно листокрутки всеїдної (51,6%). Штам В-10 виявляє високу активність до листокрутки всеїдної (92%) та помірну – до колорадського жука (66,6%).

Таким чином, обидва штами можна вважати перспективними для створення біологічного інсектицидного препарату із широким спектром ентомоцидної дії.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДРОЖЖЕЙ *Rhodospiridium diobovatum*

ЕЛЬЧИЩЕВА Ю. В., ГОЛТВЯНСКИЙ А. В.

*НИИ биологии, Харьковский национальный университет
им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: yul18424060@yandex.ru*

Биомасса дрожжей находит широкое применение в биотехнологии. В последнее время для культивирования дрожжей в качестве питательной среды часто предлагается использовать различные производственные отходы и другие нестандартные среды, поскольку разработка эффективных ме-

тодов культивування на дешевих питательних средах все ещё остается актуальной. Но часто эти компоненты не обеспечивают должную активность роста культуры. Поэтому такие среды необходимо модифицировать так, чтобы они могли создать условия для оптимального роста.

Чтобы сделать субстрат для дрожжей более доступным, можно использовать такие культуры, которые смогут обогатить среду необходимыми компонентами. И в этом отношении интерес могут представлять мицелиальные грибы, поскольку эти организмы способны усваивать различные субстраты, содержащие высокомолекулярные соединения, так как мицелием синтезируется большое количество внеклеточных энзимов, расщепляющих полимерные молекулы до мономеров, которые служат источниками питания для дрожжей. Нельзя исключить, что в процессе культивирования грибы выделяют экзосметаболиты, угнетающие рост дрожжей. Предположительно, устранить возможный ингибирующий эффект и дополнительно обеспечить гидролиз компонентов в культуре можно с помощью термической обработки, после которой в этой среде наблюдалась высокая интенсивность роста дрожжей *Rhodospiridium diobovatum*.

В связи с этим целью настоящей работы было определение влияния термической обработки на состав питательной среды, а также интенсивности роста дрожжей *Rhodospiridium diobovatum* на такой среде.

Культуральную среду базидиомицета *Pleurotus ostreatus* получали в результате культивирования мицелия на среде, содержащей 3% пшеничных отрубей и 1% дрожжевого экстракта в течении двух суток, после чего мицелий удаляли с помощью фильтрования. Оптимизировали культуральную среду с помощью термической обработки в течение 5 минут. Затем из этих сред (до и после термической обработки) получали сухой остаток методом высушивания, состав которого и определяли. Интенсивность роста дрожжей оценивали по выходу биомассы на используемых средах.

Анализ состава сухих остатков культуральных сред до и после термической обработки показал, что в сухом веществе среды после термической обработки содержится в 2,4 раза меньше сырого жира, количество общего азота ниже на 22%, общего протеина также меньше на 22% по сравнению с сухим остатком среды до термической обработки. В среде после термической обработки незначительно снижается количество кальция, фосфора и золы. Но при этом количество безазотистых экстрактивных веществ, к которым относятся и различные углеводы, после термической обработки увеличивается на 23%.

Интенсивность роста дрожжей *Rhodospiridium diobovatum* на среде после термической обработки увеличивается в 3 раза, при этом выход биомассы составляет 7,5 г/л.

Полученные данные свидетельствуют о том, что после термической обработки в среде уменьшается количество источников азота и увеличивается количество источников углерода, в результате чего изменяется общее соотношение N/C (азот/углерод). Вследствие этого увеличивается интенсивность роста дрожжей *Rhodospiridium diobovatum*.

ПРОФІЛЬ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЗАГАЛЬНИХ КЛІТИННИХ ЛІПІДІВ ШТАМУ БАКТЕРІЙ РОДУ *Pseudomonas*, ЩО МАЄ НАФТООКИСЛЮВАЛЬНУ ВЛАСТИВІСТЬ

*ІВАНІЦЯ В. О., КОРОТАЄВА Н. В., ГУДЗЕНКО Т. В., ВОЛЮВАЧ О. В.,
БСЛЯЄВА Т. О., КОНУП І. П., БУХТІЯРОВ А. Є.,
ЛІСЮТИН Г. В., ГОРШКОВА О. Г., ПУЗИРЬОВА І. В.*

*Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Україна;
e-mail: 7872930@mail.ru*

На сьогодні самим надійним, універсальним, експресним і найточнішим способом визначення родової (видової) приналежності мікроорганізмів вважається хроматографічний аналіз біомаси на вміст основних компонентів мікробних клітин: жирних кислот, оксикислот, альдегідів тощо

з автоматичною системою розшифровки. Хімічний склад (профіль) мікробних клітин більшості мікроорганізмів відомий і занесений до бібліотечного банку даних.

Метою роботи було визначення жирнокислотного складу загальних клітинних ліпідів штаму бактерій роду *Pseudomonas*, що має нафтоокислювальну властивість.

Як об'єкт дослідження використовували колекційний штам бактерій роду *Pseudomonas*, який в лабораторних умовах продемонстрував через 10 діб експозиції високий ступінь біодеструкції (70%) вуглеводнів сирої нафти з вихідною концентрацією 500 мг/дм³. Бактерії вирощували на твердому середовищі Tryptic Soy Agar (Merck) при температурі 28 °С. Пробопідготовку та хроматографічне розділення метилових ефірів жирних кислот здійснювали згідно зі стандартним протоколом (MIS Operating Manual, 2012). Жирнокислотний аналіз досліджуваного штаму проводили на газовому хроматографі Agilent 7890 (Agilent Technologies, США) з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock (MIDI USA).

Аналіз хроматограми показав, що домінантними в жирнокислотному профілі досліджуваного штаму є ізомери насичених жирних кислот (42,53%), з яких 32,03% припадає на ізомер C₁₅:0 і 4,88% – на ізомер C₁₆:0. В 1,7 раза менше порівняно з ізомерами жирних кислот (42,53%) виявлено насичені жирні кислоти (ЖК, 24,9%) від загальної суми площ піків. Переважають жирні кислоти з непарною кількістю атомів вуглецю у вуглеводневому радикалі (-R) C₁₅:0 (17,41%). Частка жирних кислот із парною кількістю атомів вуглецю у -R, а саме з -C₁₄ (C₁₄:0) і -C₁₆ (C₁₆:0) становить відповідно 2,61 і 4,88%. Майже на 10% менша доля ненасичених ЖК порівняно з долею насичених ЖК. Встановлено, що жирні кислоти C₁₆:1 із ненасиченим зв'язком між 6 і 7 атомами вуглецю становлять 13,53%, а з ненасиченим зв'язком біля 9 атома вуглецю – 4,19%. У меншій кількості виявлено насичені коротколанцюгові гідроксикислоти 3ОН-C₁₂:0 та ізомери насичених гідроксикислот 3ОН-C₁₁:0 (1,66%).

За одержаним якісним і кількісним жирно-кислотним профілем (складом), розшифрованим із використанням бібліотечної бази даних Library RTSBA6 6.21 програмою Version 6.2. системи MIDI Sherlock досліджуваний штам бактерій роду *Pseudomonas* із високим індексом схожості Sin Index 0,719 ідентифікований як *Pseudomonas maltophilia*.

Колекційний штам *Pseudomonas maltophilia* є непатогенним, завдяки своїй високій нафтодеструктивній активності може бути ефективно використаний у складі асоціації з іншими непатогенними нафтоокислювальними штамми бактерій роду *Pseudomonas* в біотехнології очищення води і/або ґрунту від нафти і нафтопродуктів.

ПЕРЕСТРОЙКИ КОНЦЕНТРАЦИОННЫХ РЯДОВ МЕТАЛЛОВ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ НАГРУЗКИ АЦЕТАТОМ СВИНЦА

КОНОВАЛОВА Е. О., АНДРЕЙКО Г. П., МИХАЙЛОВА Е. А.

*Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: olena.oleg.kon@Gmail.com*

Прогрессирующая антропогенная нагрузка на окружающую среду выдвигает на первый план проблему биологической безопасности и естественной защиты организма, в том числе за счет мобилизации собственных адаптационных механизмов. Тяжелые металлы, в том числе и свинец, отнесены ВОЗ к одному из 8 классов приоритетных загрязнителей среды обитания, в максимальной степени влияющих на здоровье населения. Пути обмена свинца, в том числе экзогенного происхождения, изучены недостаточно.

Целью данной работы было изучение перераспределения соотношения биоэлементов в органах белых крыс после нагрузки ацетатом свинца.

Эксперимент проводили на двух группах животных (трехмесячные белые крысы линии Wistar, по 9 в каждой группе). Первой группе внутримышечно вводили раствор Pb(CH₃COO)₂×3H₂O в дозе

эквивалентной 62,5 мг/кг металла через день, вторая группа была контрольной. Эвтаназия проведена после 10-дневного воздействия. Методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии определялись концентрации Mg, Zn, Fe, Ca, Co, Pb, Ni, Mn, Cu, Cd в печени, селезенке, сердце и головном мозгу.

По полученным результатам (в расчете на 1. ткани) построены ранжированные ряды концентраций исследуемых элементов для обеих групп крыс.

Для паренхиматозных органов ранжированные ряды имеют следующий вид: печень, контроль – Mg > Zn > Fe > Ca > Co > Pb > Ni > Mn > Cu > Cd; печень, экспериментальная группа – Mg > Zn > Pb > Fe > Ca > Cu > Mn > Co > Ni > Cd; селезенка, контроль – Fe > Mg > Zn > Ca > Ni > Pb > Co > Cu > Mn > Cd; селезенка, экспериментальная группа – Pb > Fe > Mg > Zn > Ca > Ni > Co > Cu > Mn > Cd. Сравнение полученных рядов показало ожидаемое относительное увеличение концентрации введенного элемента (Pb). Кроме того, происходит общее концентрирование элементов в печени, что может свидетельствовать, с одной стороны, о нарушении их транспорта кровью и выведения, а, с другой, – об активации металлозависимых ферментативных систем, реализующих механизмы срочной адаптации. Смещение позиций элементов обусловлено разной их вовлеченностью в процессы адаптации, а также антагонистическими взаимоотношениями металлов со сходным *sp*-электронным строением. В селезенке концентрирование отмечается только для элементов, находившихся на первых пяти позициях.

Для мышцы сердца получены следующие концентрационные ряды: контроль – Mg > Fe > Zn > Ca > Cu > Pb > Co > Ni > Cd > Mn; экспериментальная группа – Mg > Fe > Zn > Pb > Ca > Co > Cu > Mn > Ni > Cd. Позиции первых трех элементов остаются неизменными, так как именно они влияют на направленность основных ферментативных процессов в сердце.

Особенно интересными являются данные, свидетельствующие о разнонаправленных изменениях концентрационных рядов в правой и левой половинах мозга. Левая половина мозга: контроль – Mg > Zn > Fe > Ca > Co > Pb > Ni > Cu > Mn > Cd, экспериментальная группа – Mg > Zn > Fe > Ca > Pb > Co > Ni > Cu > Mn > Cd; правая половина мозга контроль – Mg > Zn > Fe > Ca > Cu > Pb > Ni > Co > Mn > Cd, экспериментальная группа – Mg > Zn > Fe > Ca > Pb > Co > Ni > Cu > Mn > Cd). Основные изменения произошли в позициях меди и кобальта, что может быть связано с их участием в тканевом дыхании.

Полученные данные подтверждают наличие достаточно больших биохимических адаптационных резервов, способных нивелировать действие введенного токсиканта и сохранить основные функции жизненно важных органов.

ВИКОРИСТАННЯ СУМІШІ РОСТОВИХ СУБСТРАТІВ ДЛЯ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ СИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

КОНОН А. Д., ПИРОГ Т. П., ШЕВЧУК Т. А.

*Національний університет харчових технологій, Київ, Україна;
e-mail: KononA@meta.ua*

Синтетичні поверхнево-активні речовини (ПАР) широко використовуються в різних галузях промисловості, у зв'язку з чим попит на них постійно зростає. Разом з тим темпи розвитку біотехнології на сучасному етапі та підвищена увага до збереження довкілля зумовили великий інтерес дослідників до мікробних ПАР, які можуть стати альтернативою хімічним аналогам. На сьогодні собівартість ПАР мікробного походження все ще є високою, що зумовлено значними витратами на біосинтез і виділення цільового продукту. Ефективність технологій мікробного синтезу можна забезпечити використанням суміші енергетично нерівноцінних ростових субстратів, у тому числі й промислових відходів, наприклад гліцеролу – побічного продукту виробництва біодизельного палива.

У попередніх дослідженнях показано, що *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, виділений із забруднених нафтою зразків ґрунту, синтезує комплекс нейтральних, аміно- і гліколіпідів за

росту на гідрофобних і гідрофільних субстратах. Гліколіпіди штаму ІМВ В-7241 представлено трегалозоміколатами.

Мета даної роботи – дослідити можливість підвищення синтезу ПАР під час культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на суміші ростових субстратів (*n*-гексадекану і гліцеролу).

Для забезпечення максимальної конверсії вуглецю в цільовий продукт необхідно встановити оптимальні для його синтезу молярні співвідношення концентрацій моносубстратів у суміші. А це, в свою чергу, потребує проведення теоретичних розрахунків енергетичних потреб синтезу ПАР і біомаси на енергетично дефіцитному субстраті з наступним визначенням концентрації енергетично надлишкового субстрату, що забезпечить «покриття» енергетичних витрат на цей процес. Для здійснення таких теоретичних розрахунків необхідно знати шляхи метаболізму відповідних моносубстратів у продуцентів ПАР. Наші експерименти показали, що у *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 катаболізм гліцеролу до дигідроксіацетонфосфату здійснюється двома шляхами: через гліцерол-3-фосфат (активність гліцеролкінази 740–820 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ протеїну) і через дигідроксіацетон. Окислення гліцеролу до дигідроксіацетону в штаму ІМВ В-7241 каталізується пірохінолінхінон(ПХХ)-залежною гліцеролдегідрогеназою і 4-нітросо-*N,N*-диметиланілін(НДМА)-залежною алкогольдегідрогеназою.

На основі теоретичних розрахунків енергетичних потреб синтезу поверхнево-активних трегалозоміколатів і біомаси на енергетично дефіцитному субстраті (гліцерол) встановлено концентрацію енергетично надлишкового *n*-гексадекану, що дозволяє підвищити ефективність конверсії вуглецю субстратів, які використовуються для одержання ПАР. За молярного співвідношення концентрацій *n*-гексадекану і гліцеролу 1 : 7 і співвідношення С/Н, що дорівнює 30, кількість синтезованих позаклітинних ПАР підвищувалася у 2,6–3,5 раза порівняно з такою на моносубстратах.

Підвищення синтезу ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на суміші *n*-гексадекану і гліцеролу зумовлене збільшенням в 1,3–2,4 раза активності ензимів біосинтезу поверхнево-активних гліко- (фосфоенолпіруват(ФЕП)-карбоксікіназа, ФЕП-синтетаза) і аміноліпідів (NADP⁺-залежна глутаматдегідрогеназа), а також одночасним функціонуванням гліюксилатного циклу і ФЕП-карбоксилазної реакції.

Результати роботи підтверджують доцільність використання суміші енергетично нерівноцінних ростових субстратів для підвищення синтезу вторинних метаболітів, в тому числі і поверхнево-активних речовин.

**ВПЛИВ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ ШТАМУ
Bacillus amyloliquefaciens subsp. *plantarum* ІМВ В-7404
ТА ФІТОПАТОГЕННОГО МІКРОМІЦЕТУ *Bipolaris sorokiniana*
НА ПОКАЗНИКИ ІНДУКОВАНОЇ СТІЙКОСТІ В ПРОРОСТКІВ
ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ**

*КОРЖ Ю. В., ІЛЯШ В. М., КРЮЧКОВА Л. О.,
ДРАГОВОЗ І. В., АВДЄЄВА Л. В.*

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: Jullinka35@meta.ua*

Індукція фітоімунітету є складним генетично детермінованим біохімічним процесом, індукторами (елісаторами) якого можуть бути різні чинники довкілля: фітопатогени та їхні екзومتаболіти, регулятори росту рослин тощо. Так, ензим фенілаланінамонійліаза (ФАЛ, 4.3.1.24) є одним із біохімічних маркерів індуккованої стійкості рослин до хвороб, спричинених фітопатогенами або впливом різних стресових чинників біотичної та абіотичної природи. Раніше нами було відібрано штам *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* ІМВ В-7404 з високою антифунгальною активністю щодо фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana* та ін.

Метою роботи було дослідити зміну активності ФАЛ в проростках озимої пшениці за формування індукованої стійкості до листових хвороб, спричинених *B. sorokiniana*, за дії екзометаболітів штаму *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* ІМВ В-7404.

Дослідження активності ФАЛ озимої пшениці (сорт Смуглянка), обробленої екзометаболітами штаму *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* ІМВ В-7404, показали, що базовий рівень активності ензиму у коренях у 5–6 разів вищий, ніж у надземній частині рослини. Високий рівень активності ФАЛ у коренях пшениці свідчить про важливу бар'єрну функцію коренів, через які відбувається надходження мікробних екзометаболітів із ґрунту, в складі яких є, зокрема, ліпопептидні антибіотики та регулятори росту.

Відомо, що активність ФАЛ в тканинах рослин може істотно змінюватися протягом кількох годин за дії різних факторів довкілля: світла, поранення, інфікування патогенами, еліситорів тощо. Нами показано значне зростання активності ФАЛ у надземній частині і коренях на 4–6 годину після обробки екзометаболітами досліджуваного штаму. На нашу думку, таке зростання активності в перші години після обробки рослин може свідчити про ініціацію індукованої стійкості до хвороб у проростках озимої пшениці, що обумовлено обробкою позаклітинними метаболітами штаму ІМВ В-7404.

Результати досліджень, проведених на модельній системі пшениця – грибний патоген (*B. sorokiniana*) показали достовірне зниження розвитку хвороби за дії комплексу метаболітів штаму ІМВ В-7404. Так, ступінь ураження листків озимої пшениці під впливом екзометаболітів бактерії знижується на 45,5% (4-та доба) та 20,4% (7-ма доба) порівняно з необробленим контролем. Отримані результати свідчать на користь даних щодо зміни активності ФАЛ впродовж перших 8 годин після обробки екзометаболітами штаму ІМВ В-7404. Відомо, що ФАЛ відіграє важливу роль у синтезі попередників лігніну та інших сполук, відповідальних за формування стійкості до грибних фітопатогенів. Також показано, що рівень активності ензиму в надземній частині рослин, оброблених екзометаболітами, у 1,5 раза є вищим порівняно з необробленими проростками озимої пшениці, що також свідчить про індукцію захисних реакцій.

Таким чином, за дії екзометаболітів *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* ІМВ В-7404 проростки озимої пшениці вмикають механізми самозахисту, що виявляється спочатку в активації ФАЛ, а згодом – зменшенні площі поверхні листків, ураженої грибним патогеном. За одержаними результатами зміну активності ФАЛ доцільно використовувати як біохімічний маркер індукованої стійкості при дослідженні фітоімунітету.

ВПЛИВ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК НА ФОТОСИНТЕТИЧНИЙ АПАРАТ МІКРОВОДОРОСТЕЙ *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii* ТА *Spirulina platensis*

¹КОТИНСЬКИЙ А. В., ²ПОЛІЩУК О. В., ¹БАТИЩЕВА Г. С.

¹Національний університет харчових технологій, Київ, Україна;

²Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ;

e-mail: polishch@yandex.ru

Фенольні сполуки є похідними ароматичних сполук, що містять одну або декілька гідроксильних груп, з'єднаних із атомами вуглецю ароматичного ядра. Фенольні сполуки в кількості, що перевищує гранично допустиму концентрацію у воді ($ГДК_{\text{фенол}} = 0,001$ мг/л), токсичні для гідробіонтів і порушують процес самоочищення водойм. Для визначення вмісту фенольних сполук у водоймі використовують екстракційно-фотометричні методи, які дозволяють визначити сумарну масову концентрацію фенольних сполук у пробі – «фенольний індекс». В роботі пропонується досліджувати наявність та токсичність фенольних сполук за реакцією фотосинтетичного апарату мікробів, використовуючи метод індукції флуоресценції хлорофілу *a*.

Для роботи використовували культури *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii* та *Spirulina platensis*. *C. vulgaris* штам AsLil1 культивували на середовищі Тамія протягом 7 діб в умовах цілодобового освітлення інтенсивністю 3 кЛк, при температурі 28–30 °С з подальшим переведенням у турбідостатний режим. Адаптація до умов турбідостату тривала 3 доби. *C. reinhardtii* штам СС-127 культивували на середовищі ТАР при температурі 24–25 °С в умовах цілодобового освітлення інтенсивністю 2,2–2,3 кЛк. Використовували такі фенольні сполуки: *o*-нітрофенол, *n*-нітрофенол, пірокатехін, фенол та галову кислоту. Оцінювання динаміки впливу фенольних сполук на фотосинтетичний апарат проводили *in vivo* методом індукції флуоресценції хлорофілу *a* на флуориметрі ХЕ-РАМ (Walz, Німеччина) в гострому експерименті, час інкубації становив 20 хв.

Фенольні сполуки в різних концентраціях інгібували фотосинтез досліджених мікроводоростей, а їх дія на різні параметри фотосинтетичного апарату була об'єкт-специфічною. Так, за квантовою ефективністю фотосистеми II *C. vulgaris* була найчутливішою до *n*-, *o*-нітрофенолу та галової кислоти (концентрації, що знижують квантовий вихід фотосистеми II на 50%, становили 0,008, 0,017 і 0,08% відповідно), а *C. reinhardtii* була чутливою до *o*-нітрофенолу, фенолу та пірокатехіну (0,016, 0,079 і 0,079% відповідно) і нечутливою до *n*-нітрофенолу і галової кислоти в тому самому діапазоні концентрацій. *S. platensis* виявилася нечутливою до нітрофенолів і чутливою до галової кислоти та пірокатехіну (концентрації, що знижують квантовий вихід фотосистеми II на 50%, становили 0,029 і 0,013% відповідно). Чутливість *S. platensis* до фенолу є помірною (0,276%).

Різна специфіка чутливості *C. vulgaris*, *C. Reinhardtii* та *S. platensis* до фенольних сполук може бути пов'язана з наявністю різних механізмів зв'язування та детоксифікації фенолів і дозволяє рекомендувати метод індукції флуоресценції хлорофілу досліджених об'єктів для подальшого використання при розробці експрес-методу диференційного виявлення досліджених речовин у водоймах, в які скидаються стічні води, що містять фенольні сполуки.

БІОКОНВЕРСІЯ ВІДХОДІВ АГРОПРОМИСЛОВОГО КОМПЛЕКСУ ВИЩИМИ ГРИБАМИ ТА ШЛЯХИ ВИКОРИСТАННЯ ЇЇ ПРОДУКТІВ

КРУПОДЬОРОВА Т. А., БАРИШТЕЙН В. Ю.

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

Серед пріоритетних напрямів сучасних біотехнологічних досліджень є вивчення процесів біоконверсії різноманітних відходів. Біоконверсія відходів агропромислового комплексу сприяє ефективному використанню біоресурсів шляхом їх безвідходної переробки. Все більший інтерес дослідників, з точки зору економічності та ефективності процесу утилізації відходів, викликають вищі гриби. Зважаючи на їх значне видове різноманіття доцільним і актуальним на сьогодні залишається пошук нових субстратів на основі відходів та проведення скринінгу грибів на здатність їх утилізувати.

Метою роботи було вивчення можливості утилізації відходів агропромислового комплексу України вищими грибами та пошук перспективних шляхів використання її продуктів (біомаси та культуральної рідини).

Для досліджень було вибрано представники вищих грибів різних таксономічних та еколого-фізіологічних груп із відділів *Ascomycota* та *Basidiomycota*. Як субстрати використовували відходи олієекстракційної промисловості (шроти та жмихи); макаронного та круп'яного виробництва (крупки та мучки); борошномельного виробництва (пшеничні висівки, дерть пшениці та ячменю). Кількісні результати поверхневого росту 30 видів вищих грибів на рідкому середовищі з вищезазначеними відходами дозволили вибрати нові альтернативні субстрати, перспективні для культивування тих чи інших грибів. Високу біологічну ефективність конверсії субстратів (від 30 до 58%) встановлена для видів: *Agrocybe aegerita*, *Auriporia aureus*, *Cordyceps sinensis*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma*

applanatum, *G. lucidum*, *Fomes fomentarius*, *Lyophyllum schimeji*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus* та *Schizophyllum commune*. За показниками інтенсивності утворення біомаси та біотрансформації широкого спектра субстратів відібрано перспективні для біотехнологічного застосування види грибів: *C. sinensis*, *P. ostreatus* та *S. commune*. Виявлений в складі біомаси та культуральної рідини цих грибів унікальний комплекс біологічно активних та цінних сполук, у тому числі: незамінних амінокислот і жирних кислот, вітамінів та есенціальних мікро- і макроелементів свідчить про доцільність та раціональність сумісного використання висушених біомаси грибів та культуральної рідини. Встановлені властивості біомаси та культуральної рідини обумовили доцільність одержання на їх основі функціональних продуктів. Розроблені рецептури функціональних продуктів харчування: харчового концентрату – суп грибний (функціональний інгредієнт – біомаса та культуральна рідина *C. sinensis*) і паштетів (функціональний інгредієнт – біомаса *P. ostreatus*) та виготовлені дослідні партії. Ці функціональні інгредієнти одержано в процесі біоконверсії шроту амаранту *Amaranthus hybridus* L. – відходу CO₂-екстракції). Внесення біомаси гриба *P. ostreatus* до розроблених рецептур дозволяє одержати продукт з оптимальними органолептичними показниками, збалансований за хімічним складом, перш за все, складом амінокислот (особливо незамінних, необхідних для нормального функціонування людського організму). Результати дослідження сорбційної здатності сухої біомаси *P. ostreatus* засвідчили, що вона має властивості ентеросорбента, які додають вищезазначеним харчовим продуктам здатність сприяти виведенню з організму людини важких металів.

Результати представленого комплексного дослідження дозволяють вирішити низку гуманітарних та екологічних проблем нашої країни: покращити структуру харчування населення, раціонально використовувати біоресурси шляхом їх безвідходної переробки та утилізувати деякі види відходів агропромислового комплексу.

ВМІСТ КАРОТИНОЇДІВ У *Moina macrocopa* (STRAUS, 1820) ЗА УМОВ ВИГОДОВУВАННЯ КАРОТИНСИНТЕЗУЮЧИМИ ДРІЖДЖАМИ *Rhodotorula glutinis* ТА *Rhodotorula rubra*

КУШНІРИК О. В., ХУДИЙ О. І., ХУДА Л. В.

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

Каротиноїди впливають на процеси дозрівання ікри, диференціації клітин в ембріональний період, а також стимулюють темпи росту молоді риб. Зважаючи на важливу роль цих речовин у формуванні нормального фізіологічного статусу личинок, було досліджено можливість насичення каротиноїдами живих кормів – гіллястовусих ракоподібних *Moina macrocopa* (Straus). Задля цього в процесі культивування моїн як харчового субстрату використовували два види каротинсинтезуючих дріжджів – *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra*. Сконцентровані шляхом центрифугування дріжджі вносили із розрахунку 1,0; 0,5 та 0,25 г на 1 л культурального середовища ракоподібних. Періодичність годування – 48 годин. Початкова чисельність моїн становила 200 ос./л. Дослідження проводили за контрольованих світлових та температурних умов із використанням синтетичного середовища ADaM (Kluttgen, 1994). Екстракцію та визначення загального вмісту каротиноїдів здійснювали за раніше описаною методикою (Продукты пищевые., 2011).

Згідно з одержаними результатами, моїни накопичували більшу кількість каротиноїдів за використання як харчового субстрату *R. rubra*, причому така закономірність спостерігалася для усіх досліджуваних концентрацій суспензії дріжджів. Дослідження впливу різних концентрацій дріжджів на рівень накопичення каротиноїдів зоопланктоном показали, що найефективнішою є концентрація 0,5 г/л, при чому таку закономірність було відмічено як для *R. glutinis*, так і для *R. rubra*. В обох випадках у разі використання зазначеної концентрації дріжджів моїни накопичували в 2,5 раза більше каротиноїдів, ніж у разі використання інших концентрацій.

У технології культивування зоопланктону, окрім корекції нутрієнтного складу, важливе місце займає питання швидкості нарощення біомаси. Так, у разі застосування каротинсинтезуючих дріжджів приріст культури моїн спостерігається вже на 5-ту добу, тоді як використання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* сприяє нарощуванню біомаси зоопланктону тільки на 8-му добу культивування. Згідно з отриманими результатами, розвиток моїн на дріжджах *R. rubra* є інтенсивнішим порівняно із *R. glutinis*.

Отже, використання каротинсинтезуючих дріжджів *R. rubra* сприяє не тільки пришвидшеному нарощенню біомаси живих кормів, але й їх ефективному збагаченню каротиноїдами. Це дозволяє оптимізувати технологію культивування живих кормів із застосуванням каротинсинтезуючих дріжджів і тим самим підвищити їхню харчову цінність для личинок риб.

ОЧИСТКА ПРИРОДНИХ ГЕМАГЛЮТИНІНІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ІМУНОСОРБЕНТІВ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ В БІОМЕДИЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

¹ЛУЦИК М. Д., ²ЛУЦИК М. М.

¹Інститут біології клітини НАН України, Львів;

²Львівський національний медичний університет

імені Данила Галицького, Україна;

e-mail: lootsik@cellbiol.lviv.ua

Природні гемаглютиніни (Агл) α і β традиційно застосовують для визначення групових антигенів крові А, В у трансфузіології і судово-медичній експертизі. Недоліком препаратів із сироватки крові людини є низький титр гемаглютинації, який не відповідає вимогам судово-медичних досліджень. Для подолання цього недоліку використовують препарати імунних поліклональних або моноклональних антитіл із анти-А, анти-В специфічністю. Мета проведеної роботи полягала у розробці методу одержання препаратів Агл α і β із високими титром і стабільністю, а також розширенні сировинної бази для їх одержання.

Для очистки Агл нами було синтезовано імуносорбенти з іммобілізованими муцинами із серологічною специфічністю А або В, які одержували із шлункового соку людини шляхом фракційного осадження етанолом. Серологічну специфічність муцинів визначали методом адсорбції сироваток анти-А і анти-В. Синтез сорбентів здійснювали шляхом полімеризації суміші сироваткового альбуміну і відповідного муцину 1%-им глутаровим альдегідом при рН 5,0. Одержаний гель подрібнювали до частинок розміром 50–100 мкм і зберігали у фізрозчині із додаванням 3% фенолу. Перед застосуванням гель промивали на колонці фізрозчином, рН 7,2.

Агл α і β отримували із плазми крові пацієнтів групи крові А або В, яка залишалася після плазмаферезу. Із плазми виділяли фракцію імуноглобулінів двократним осадженням амоній сульфатом із розрахунку 400 г/л плазми з метою видалення фібриногену, який зумовлює коагуляцію розчинів і зупиняє їх протікання через колонку. Розчини імуноглобулінів фільтрували через шар сорбенту в колонці до насичення сорбенту, що визначали за титром аглютинації еритроцитів людини групи А або В у витікаючій із колонки рідині. Після промивання сорбенту фізрозчином адсорбований Агл елюювали гліциновим буфером, рН 2,7. Фракції елюату нейтралізували до рН 7,0–7,5 зразу після виходу з колонки. Агл концентрували шляхом висолювання протеїну із елюату амоній сульфатом за 50%-го насичення. Осад зберігали в герметично закритій посудині при 4 °С. Робочі розчини готували розчиненням осаду в мінімальному об'ємі води, діалізували проти фізрозчину, доводили титр до 1:512–1:1024, додавали консервант азид натрію до 0,02%, стерилізували фільтруванням, фасували в ампули по 1 мл або у флакони по 5 мл і зберігали при 4 °С. Розчини Агл виявляли високий титр, специфічність і стабільність під час зберігання протягом року.

За даними електрофоретичного аналізу очищені препарати Агл містили імуноглобуліни усіх трьох класів із переважанням IgM. Одержані препарати виявляють високу серологічну специфічність. За виявлення антигенів А/В за допомогою реакції адсорбції-елюції в модельних і реальних зразках матеріалу при судово-медичній експертизі дають задовільні результати.

Також виявлено, що сироватка крові сільськогосподарських тварин містить Агл анти-А і анти-В. У сироватці крові бика частіше виявляється Агл анти-А, у сироватці крові овець – анти-В. За допомогою імуносорбентів одержано з хорошим виходом відповідні Агл з високими специфічністю і титром. Можливість одержання групоспецифічних Агл α і β із крові свійських тварин істотно розширює сировинну базу для виробництва цих важливих діагностичних реагентів, які застосовують у трансфузіології і судовій медицині.

НАКОПЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ СОИ КАК ФАКТОР ЗАЩИТЫ ОТ СОЛНЕЧНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ПАТОГЕНОВ

МАКАРЕНКО О. А., ХОДАКОВ И. В., ЛЕВИЦКИЙ А. П.

ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса;
e-mail: flavan@mail.ru

Полифенольные соединения растений являются объектом пристального внимания исследователей благодаря их широкому распространению в растительном мире. По своей химической структуре – это производные фенола, содержащие дополнительно одну или более гидроксильные группы. Основные функции флавоноидов в растениях сводятся к участию в окислительно-восстановительных процессах, роли ярких аттрактантов для насекомых и животных в процессе размножения растений, защите растений от стрессов, роли сигнальных молекул в ауксиновом обмене и симбиотической азот-фиксации.

Сведения о составе полифенолов и его изменении в онтогенезе в листьях культурных растений отечественной селекции, в частности сои, отсутствуют. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование сортовых особенностей содержания полифенолов в листьях некоторых отечественных сортов сои в различных фазах вегетации для определения их возможной роли в формировании устойчивости сортов к неблагоприятным факторам. В работе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографической системе Shimadzu исследован состав и количественное содержание флавоноидов в экстрактах высушенных листьев сои *Glycine max* (L.) Merr. (Leguminosae) сортов Берегиня, Васильковская, Данко, Сяйво и Фарватер на стадиях начала цветения, полного цветения, конца цветения и налива бобов. Выбранные сорта сои занесены в государственный реестр сортов Украины, рекомендованы для культивирования в степной южной зоне и характеризуются высокой засухоустойчивостью. Вещества идентифицировали путём сравнения времени удерживания флавоноидов и спектральных характеристик с аналогичными характеристиками стандартов. Анализ образцов проводили в трёх повторностях.

В листьях сои исследуемых сортов были идентифицированы флавоноиды катехин, нарингин, нарингенин, нарингенинподобные, рутин, кверцетин, кверцетинподобные, апигенинподобные, лютеолин, лютеолинподобные, дайдзин, дайдзеин, генистин, генистеин, а также хлорогеновая и кофейная кислоты. Среди них лидируют кверцетинподобные вещества – от 44 до 92% в зависимости от сорта и фазы вегетации, половину из которых может составлять рутин. Обнаружена закономерность: более устойчивые сорта к патогенным грибам Фарватер и Сяйво на стадии налива бобов содержат больше рутина (966,4...1527,0 мкг/г). Максимальное содержание флавоноидов (4069,6 мкг/г), в том числе кверцетинподобных веществ (3406,6 мкг/г) отмечено в листьях сорта Данко в период налива бобов. Исходя из этого, вполне вероятно, что накопление рутина в листьях сои имеет место в формировании их устойчивости к аскохитозу, септориозу, пероноспорозу, фузариозу и серой гнили.

В онтогенезе листьєв исследуємых сортєв сои установлено накопленє (от 1,5 до 8,2 раз) флавоноидєв в концє цветєния и в период налива бєбєв. Возможно, что данный факт связан с защитной реакцией листьєв сои от повышенного уровня солнечного излучения, приходящегося на этот период.

По результатам исследования можно предположить, что уровень рутина в листьях сои определяет степень их устойчивости к патогенным грибам, а повышение общего содержания флавоноидєв в листьях сои в концє цветєния и в фазє налива бєбєв является защитной реакцией от высокого уровня солнечного излучения.

СУБСТРАТНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ЕЛАСТАЗИ *Bacillus thuringiensis* IMB B-7324

МАЦЕЛЮХ О. В.

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: oivanko@yahoo.com

Дослідження механізмів ензиматичного каталізу є важливим напрямом біотехнології. Одним з основних елементів, який визначає ефективність функціонування будь-якого ензиму є його специфічність, тобто взаємодія із субстратом. Еластази (еластолітичні протеїнази) – низка ендopeптидаз, які належать до різних каталітичних типів протеїназ: серинових, цистеїнових і металопептидаз. Найбільш вивченими є панкреатична і лейкоцитарна еластази (3.4.21.36, 3.4.21.37 відповідно) вищих тварин, які належать до типу серинових пептидаз і специфічні до пептидних зв'язків, що утворені карбоксильними групами аланіну, валіну, лейцину, ізолейцину, а також залишками інших гідрофобних амінокислот. Відомості про синтез і властивості еластаз мікробного походження розрізнені і досить обмежені. Відомо, що такі ензими синтезують окремі представники родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Aspergillus*. Еластаза *P. aeruginosa* (3.4.24.26) є цинквмісною металопептидазою, а представники бацил синтезують лужні серинові еластолітичні пептидази. Але, не дивлячись на відмінності в механізмі каталітичної дії, ці ензими однаково ефективно гідролізують еластин. Об'єктом дослідження була позаклітинна серинова лужна протеїназа *Bacillus thuringiensis* IMB B-7324 з еластазною активністю. Метою роботи було вивчення субстратної специфічності виділеної протеїнази.

Дослідження швидкості гідролізу низки нативних субстратів показало широку субстратну специфічність досліджуваного ензиму щодо нативних субстратів, що є характерним для субтилізинів, які синтезуються бактеріями роду *Bacillus*. Виділена пептидаза ефективно гідролізує низку протеїнових субстратів як фібрилярної, так і глобулярної природи: еластин, фібрин, фібриноген, казеїн, гемоглобін, колаген. Також встановлено, що фібриноген, оброблений пептидазою *B. thuringiensis* IMB B-7324 протягом лише 15 хв вже нездатний перетворюватися на фібрин за дії тромбіну. Широкий спектр природних субстратів, які гідролізує еластаза *B. thuringiensis* може бути обумовлений будовою її каталітичного центру і широким спектром амінокислот, які відповідають її первинній специфічності. Показано, що еластаза має субстратну специфічність, подібну до протеїназ субтилізинового типу, що визначається здатністю гідролізувати специфічні хромогенні субстрати Z-Ala-Ala-Leu-pNa і Z-Gly-Gly-Phe-pNa, а також виявляє естеразну активність. Найактивніше ензим гідролізував трипептиди із залишками гідрофобних амінокислот аланіну, лейцину і фенілаланіну в позиції S1. За спорідненістю до цих амінокислот можна побудувати такий ряд: Ala>Leu>Phe. Важливими для гідролізу були амінокислоти і в позиціях S2 і S3. Так, заміна аланіну на гліцин у двох позиціях S2 і S3 призводить до зниження активності на 75%. Дані щодо переважного гідролізу пептидазою за залишками гідрофобних амінокислот підтверджено також результатами тонкошарової хроматографії гідролікатів нативних протеїнових субстратів, що показала наявність в них залишків аланіну, лейцину і валіну. Кінетичні параметри реакції гідролізу специфічного субстрату еластаз N-succinyl-Ala-Ala-Ala-pNa складають 0,83 мМ (K_m) і 20,1 mmol mL⁻¹ min⁻¹ (V_{max}) і знаходяться на рівні значень панкреатичної еластази, що робить виділений ензим перспективним для практичного застосування. Таким чином,

здатність еластолітичної пептидази *B. thuringiensis* IMB B-7324 гідролізувати широкий спектр нативних протеїнів фібрилярної і глобулярної природи обумовлена її специфічністю щодо залишків гідрофобних амінокислот – аланіну, лейцину, фенілаланіну.

α -TOCOPHEROL-DEPENDENT IRON(II) RELEASE FROM MAGNETIC NANOPARTICLES

¹MACKOVÁ H., ¹HORÁK D., ²DONCHENKO G. V., ²PALYVODA O. M.,
²POKUSAIEVA A. O., ²PUSTOVYY V. I., ²BABINSKIY A. V., ²KUZMENKO O. I.

¹*Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences
of the Czech Republic, Prague;*

²*Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: akuzm@hotmail.com*

Nanoparticulates have attracted significant attention in medical biotechnology, such as for separation of biomolecules, drug delivery, diagnostic, etc. Investigation of the biological activity of nanoparticles is thus an important fundamental and application task. Aim of this investigation was to evaluate the α -tocopherol (vitamin E) effect on newly developed surface-modified iron oxide nanoparticles coated with poly(N,N-dimethylacrylamide) (PDMAAm). The effect was compared with that of CuFe₂O₄ nanoparticles serving as a control.

Colloidally stable maghemite (γ -Fe₂O₃) nanoparticles were obtained by the coprecipitation of Fe(II) and Fe(III) chlorides and oxidation with sodium hypochlorite and coated with PDMAAm. The nanoparticles were thoroughly characterized by a range of methods including transmission electron microscopy, elemental analysis, FT-IR spectroscopy, dynamic light scattering and zeta-potential measurements. The effect of α -tocopherol on nanoparticles was measured by changing color of the Fe(II)-o-phenanthroline complex. All experiments were carried out *in vitro* in 0.9% NaCl solution and 10 mM TRIS (pH 7.4) at 37 °C for 24 h under shaking. The reaction mixture contained 0.25 mg nanoparticles/ml, 0.005% o-phenanthroline and α -tocopherol at various concentrations ranging from 100 to 1000 μ M. The absorbance at 520 nm was recorded using an UV spectrophotometer. Blank was carried out without α -tocopherol. Two-tailed Student's *t*-test was used for comparisons of experimental groups. The level of significance was set at $P < 0.05$. All data are presented as means \pm standard error. Experiment was performed in triplicate.

In the presence of α -tocopherol, Fe(II) was quantitatively released from the nanoparticles into the solution. The addition of increasing amounts of α -tocopherol in concentrations ranging from 200 to 750 μ M to a constant amount of PDMAAm- γ -Fe₂O₃ nanoparticles resulted in concentration-dependent increase of released Fe(II) ions. Obtained data showed that α -tocopherol, investigated at the same concentration range, released Fe(II) also from CuFe₂O₄ into solution.

We demonstrated the α -tocopherol-dependent Fe(II) release from newly developed surface-modified PDMAAm- γ -Fe₂O₃ nanoparticles, as well as from CuFe₂O₄ nanoparticles (control). We speculate that Fe(II) release from the nanoparticles may be due to reduction of Fe(III) to Fe(II) by α -tocopherol on the nanoparticle surface. Thus, this biological activity should be taking into account when proposing iron oxide-containing nanoparticles for applications in biology, medicine and veterinary.

The authors wish to acknowledge the Academy of Sciences of the Czech Republic and the National Academy of Sciences of Ukraine for support of joint research project.

**РІСТ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО
ПЕРЕТВОРЕННЯ ЕНЕРГІЇ ЗЕЛЕНИМИ ВОДОРОСТЯМИ
Chlorella vulgaris BEIJER У ПРИСУТНОСТІ
НАНОАКВАХЕЛАТІВ СЕЛЕНУ**

¹МИХАЙЛЕНКО Н. Ф., ²ШЕВЧЕНКО Ю. В.

¹Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ;

²Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут»;

e-mail: nf_mykhaylenko@mail.ru

Майбутнє нанотехнологій в біологічній сфері полягає у використанні функціональних нанобіоматеріалів. Перспективними наноматеріалами є не колоїдні розчини наночастинок, а наноаквахелати біогенних і бактерицидних елементів, що відповідають таким основним вимогам, як біосумісність і програмована позитивна дія на біологічний об'єкт. Первинні наноматеріали, одержані за допомогою ерозійно-вибухової технології, є вихідними речовинами для одержання наноаквахелатів – наночастинок, лігандами яких є молекули води і/або карбонових кислот. Гідратовані наночастинок мають можливість легко проникати крізь мембрани клітин і звільнятися від лігандів, що створює умови для їх високої активності за збереження екологічної чистоти. Це дозволяє використовувати такі наночастинок для посилення або гальмування певних метаболічних процесів або впливати на фізичні властивості клітин і тканин.

Зараз в Україні промислово виробляються та широко використовуються надчисті нанокарбоксилати благородних металів і основних мікроелементів. Ці сполуки знайшли застосування в медицині, харчовій і косметичній промисловості, рослинництві, тваринництві, комунальному господарстві. Метою нашої роботи було дослідження впливу карбоксильованих лимонною кислотою наноаквахелатів селену на нагромадження біомаси та інтенсивність перебігу фотохімічних реакцій в широко застосовуваних в багатьох галузях біотехнології зеленої водорості *Chlorella vulgaris* Beijer.

Водорості вирощували на рідкому мінеральному середовищі Тамія при температурі 25–26 °С і цілодобовому освітленні зі щільністю потоку квантів фотосинтетично активної радіації 40–42 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. Під час посіву до культур додавали розчин наночастинок селену до концентрацій 0,067, 0,2, 0,4, 2 чи 4 мг/л. Проби відбирали під час посіву та через кожні 6 діб росту. Масу сухої речовини водоростей визначали гравіметричним методом. Флуоресценцію хлорофілу *a* вимірювали при кімнатній температурі за методикою Максвелл і Джонсона.

За додавання 2 або 4 мг наноаквахелатів селену на 1 л культури нагромадження біомаси водоростей одразу підвищувалося в 1,4 раза. Позитивна дія наночастинок Se на ріст зберігається впродовж усього експерименту, хоча і дещо послаблюється з часом. Якщо ж наноаквахелати Se додавали до концентрації 0,4 мг/л, то протягом перших 18 діб ріст прискорюється лише на 7–11%, проте надалі ефект зростає і стає таким самим, що і у разі 5- чи 10-кратно вищої концентрації Se. Зменшення концентрації наночастинок Se до 0,2 і нижче до 0,067 мг/л приводить до уповільнення росту культури порівняно з контрольним зразком на 12-ту добу досліду, однак маса сухої речовини не відрізняється від контрольної культури на 18-ту добу у разі 0,2 мг/л Se і на 24-ту добу – для 0,067 мг/л Se.

Внесення наноаквахелатів Se (0,4–4 мг/л) в середовище культивування водоростей спричинює початкове підвищення F_v/F_m – максимальної ефективності фотохімічних реакцій у фотосистемі II (ФСII), а також квантового виходу електронного транспорту у ФСII (ФПС II), в основному за рахунок зростання ефективності фотохімічних реакцій у відкритих реакційних центрах ФСII (F_v'/F_m'). Ступінь прояву і тривалість дії Se зростають з підвищенням його концентрації. За дії 2 і 4 мг/л наночастинок Se на 6-ту добу зростає також коефіцієнт фотохімічного гасіння флуоресценції (q_p), а в присутності 4 мг/л наночастинок Se протягом всього експерименту вірогідно підвищеним було нефотохімічне гасіння флуоресценції.

Отже, нанокарбоксилати селену в концентраціях від 0,4 до 4 мг/л позитивно впливають на нагромадження біомаси *C. vulgaris*, а також підвищують ефективність перебігу фотохімічних реакцій у ФСП на початку росту культури.

ФЛУОРЕСЦЕНТНЕ МІЧЕННЯ ПРОТЕЇНІВ ДІОКСАБОРИНОВИМИ БАРВНИКАМИ

¹МИХАЙЛЮК В. В., ²НЕГРУЦЬКА В. В., ³ГЕРАСЬОВ А. О.,
³ШАНДУРА М. П., ³КОВТУН Ю. П., ²ДУБЕЙ І. Я.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

²Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ;

³Інститут органічної хімії НАН України, Київ;

e-mail: dubey@imbg.org.ua

Флуоресцентні барвники широко застосовуються для візуалізації протеїнів у тканинах та окремих клітинах, електрофоретичних гелях тощо. Останніми досягненнями в цій області вважається надчутлива детекція окремих молекул біополімерів та візуалізація процесів у клітині в динаміці *in vivo* та *in vitro*. Окреме місце займають методи мічення, що ґрунтуються на ковалентному зв'язуванні молекул барвника з протеїнами. Молекули протеїнів містять багато різних функціональних груп, проте для мічення зазвичай використовується взаємодія аміно- чи тіолспецифічних похідних флуорофорів із нуклеофільними аміно- або сульфгідрильними групами протеїнів відповідно.

Ми запропонували 1,3,2-(2Н)-діоксаборинполіметинові ціанінові барвники ДБ1 і ДБ2 як ефективні аміноспецифічні зонди. Спектрально-флуоресцентні властивості барвників, структури продуктів ковалентного приєднання до амінів та механізм реакції було детально вивчено. Особливо важливо, що для реакції з амінами діоксаборинові барвники не потребують додаткової активації. У процесі взаємодії барвників, що самі по собі не флуоресцентні, з аміногрупами протеїнів у водному середовищі (фосфатний буфер, рН 7,4) утворюються похідні з інтенсивною емісією. Саме ці спектральні зміни й дозволяють використовувати цю групу барвників як ефективні аміноспецифічні мітки.

Під час дослідження можливості детекції протеїнів в поліакриламідному гелі за допомогою реагентів ДБ1 і ДБ2 було встановлено, що протеїни ковалентно зв'язуються з ними з утворенням високофлуоресцентних кон'югатів, які не розпадаються за електрофорезу в денатуруючому поліакриламідному гелі. Яскравість світіння мічених протеїнів в гелі у разі візуалізації за допомогою довгохвильового УФ-опромінення пропорційна кількості протеїну в пробі. При цьому інтенсивність флуоресценції протеїнових кон'югатів з ДБ1 вища, ніж з ДБ2. Одночасно кон'югати з ДБ1 значно стабільніші та зберігаються в фосфатному буфері протягом не менше 6 місяців при -20 °С з незначним зниженням інтенсивності флуоресценції, на відміну від похідних ДБ2, стійких в цих умовах протягом 2–3 місяців. Таким чином, ДБ1 виявився значно ефективнішим реагентом для мічення протеїнів.

Ми вважаємо, що різниця в яскравості світіння та стабільності протеїнових кон'югатів двох барвників може бути пов'язана з відмінністю в їхній хімічній структурі, а саме з різним положенням сульфогрупи, що вводиться для підвищення розчинності реагентів у воді. У разі застосування барвника ДБ1 ця група знаходиться безпосередньо в ароматичному ядрі барвника, тоді як у ДБ2 вона приєднана у вигляді сульфопропільного замісника.

Нижня межа виявлення в поліакриламідному гелі кон'югату ДБ1 з БСА становить 100 нг, а з лізоцимом – 25 нг.

Показана можливість та підібрано оптимальні умови фарбування поліакриламідних гелів досліджуваними діоксабориновими барвниками для постелектрофоретичної флуоресцентної детекції протеїнів.

ПРОДУКУВАННЯ ТОКОФЕРОЛУ КЛІТИНАМИ *Euglena gracilis* ЗА МІКСОТРОФНОГО ЖИВЛЕННЯ

МОКРОСНОП В. М., ЗОЛОТАРЬОВА О. К.

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ;

e-mail: membrana@ukr.net

Euglena gracilis – одноклітинна джгутикова протиста, яка може накопичувати у великій кількості біологічно активні сполуки, завдяки чому розглядається як перспективний об'єкт біотехнології. Варіація умов вирощування *E. gracilis* дозволяє істотно підвищити вихід з її клітин α -токоферолу та порівнювати організм із відомими продуцентами вітаміну Е – рослинами (Ogbonna J., 2009). Культивування *E. gracilis* полегшується її здатністю добре рости в широкому діапазоні значень рН і температури, а також пристосуванням до виживання в анаеробних умовах. Цьому організму властиве як автотрофне живлення за рахунок енергії світла з використанням CO_2 як єдиного джерела вуглецю, так і гетеротрофне. На світлі ріст *E. gracilis* може стимулюватись екзогенними джерелами вуглецю, зокрема етанолом та глутаматом, при цьому культура живиться міксотрофно (Oda Y. et al., 1982). Згідно з даними літератури, етанол, а також комбінація етанолу з глутаматом сприяють накопиченню в клітинах *E. gracilis* α -токоферолу під час вирощування культури в темряві (Rodriguez-Zavala J. et al., 2010). Міксотрофне культивування в присутності цих сполук досліджено мало, зокрема їх вплив на акумуляцію токоферолів. Тому метою роботи було вивчити вплив міксотрофного культивування клітин мікрододорості *E. gracilis* на накопичення в них токоферолів. Також було оцінено вміст хлорофілів та рівень кисню, які, відповідно до літературних даних, можуть корелювати з концентрацією α -токоферолу в клітинах досліджуваних культур *E. gracilis*.

Зразки культур клітин *E. gracilis* вирощували в сольовому поживному середовищі (Cramer and Myers, 1952) в присутності етанолу (100 мМ, «Ет»), глутамату натрію (30 мМ, «Гт»), суміші цих сполук («ЕтГл»), а також без екзогенних субстратів («Контроль»). Культури росли без перемішування та аерації, за інтенсивності цілодобового освітлення $100 \text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ та температури 25°C . На 20-ту добу вирощування аналізували вміст токоферолів модифікованим нами методом кількісного визначення токоферолів (ГОСТ-30417-96), кількість хлорофілів – методом екстракції 100%-им ацетоном (Lichtenthaler, 1987), рівень кисню – за допомогою комп'ютеризованого полярографа, оснащеного електродом Кларка. Концентрацію клітин зразків культур визначали підрахунком їх у камері Горяєва.

Дослідження рівня токоферолів у клітинах культур *E. gracilis* на 20-у добу вирощування показали, що міксотрофне культивування у присутності етанолу та глутамату не стимулює накопичення токоферолів, порівняно з контрольним варіантом. Проте клітини культури ЕтГт акумулювали більшу кількість токоферолів, ніж Ет і Гт. У суспензії клітин із Гт підтримується високий рівень концентрації кисню, тоді як у присутності етанолу (Ет, ЕтГт) він істотно знижується порівняно з контролем. Найвищий показник вмісту хлорофілів спостерігається в клітинах культури Ет, а найменший – у контрольному зразку. Накопичення біомаси культурою *E. gracilis* найбільше стимулювалось сумішшю субстратів етанолу та глутамату, тоді як контрольний зразок мав в ~ 6 разів меншу концентрацію клітин.

Результати роботи показали, що накопичення токоферолів клітинами *E. gracilis* не залежить від концентрації кисню в культурі та вмісту хлорофілів у клітинах. Вихід токоферолів з одиниці об'єму міксотрофно культивованої *E. gracilis* є більшим за рахунок накопиченої біомаси і найбільшим у культурі *E. gracilis* в середовищі з ЕтГт.

ГИДРОЛИЗ ТРУДНОРАСТВОРИМЫХ ПРОТЕИНОВ ПЕПТИДАЗОЙ 2 *Bacillus thuringiensis* ИМВ В-7324

НИДЯЛКОВА Н. А., ВАРБАНЕЦ Л. Д.

*Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев;
e-mail: Nidialkova@gmail.com*

Основной функцией микробных внеклеточных пептидаз является расщепление протеинов, находящиеся в окружающей среде, и превращение их в форму, которая способна легко проникать внутрь клетки. Изучение пептидаз, которые гидролизуют такие труднорастворимые протеиновые субстраты, как фибрин, эластин и коллаген, в настоящее время является актуальной проблемой научных исследований, поскольку такие энзимы могут найти применение для удаления рубцовой ткани, в составе косметических препаратов, в моющих средствах для устранения протеиновых пятен, в фармацевтической промышленности в качестве лекарственных ингредиентов, особенно тромболитических средств, а также в кожевенной промышленности для обезволашивания и смягчения кожи, улучшая её качество, сохраняя толщину готового изделия. Участие пептидаз в таких различных процессах обусловлено их специфичностью, сохранением каталитической активности в широких пределах pH и температур. Ранее нами было установлено, что *Bacillus thuringiensis* ИМВ В-7324 в стационарной фазе роста (48 ч культивирования) синтезирует фибринолитическую металлопептидазу (пептидаза 2 с Мм 24 кДа), которая способна сохранять активность в интервале значений pH от 6,0 до 11,0 и температуре от 20 до 50 °С в течение 1 ч.

Целью работы было изучение субстратной специфичности пептидазы 2 *B. thuringiensis* ИМВ В-7324. Исследование гидролиза пептидазой 2 *B. thuringiensis* ИМВ В-7324 широкого спектра протеиновых субстратов показало, что энзим расщепляет фибрин, фибриноген, казеин и коллаген, но не расщепляет эластин. Наиболее высокая удельная активность обнаружена по отношению к фибрину и фибриногену (88,75 и 76,25 ед./мг протеина соответственно).

Для использования протеолитических энзимов в разных отраслях промышленности необходимо знать не только их субстратную специфичность к различным протеинам, но и оптимальные соотношения концентраций энзима и субстратов для эффективного гидролиза последних. Поиск оптимальных соотношений концентраций пептидазы 2 *B. thuringiensis* ИМВ В-7324 и протеиновых субстратов проводили с помощью полного двухфакторного эксперимента. На основании полученных данных в программе STATISTICA 8.0 было построено трёхмерное изображение для определения оптимального соотношения концентраций субстратов (фибрин, фибриноген, казеин и коллаген) и исследуемого энзима. Установлено, что 1 мг пептидазы 2 может расщепить 67 мг фибрина, 54 мг фибриногена, 49 мг коллагена и 25 мг казеина. Определение константы Михаэлиса исследуемой пептидазы показало, что она имеет большое сродство к фибрину и казеину, значение K_m составляет 1,1 и 1,2 мг соответственно.

Таким образом, установлено, что пептидаза 2 *B. thuringiensis* ИМВ В-7324 характеризуется большей специфичностью к фибрину и фибриногену, чем к казеину и коллагену, но в то же время имеет большое сродство к фибрину и казеину.

КОРЕКЦІЯ ГІПОКСИЧНИХ РОЗЛАДІВ МЕТАБОЛІЗМУ НИРКИ КРОЛЯ ШЛЯХОМ ІН'ЄКЦІЙНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ФАКТОРА РОСТУ ФІБРОБЛАСТІВ

¹НІКУЛІНА Г. Г., ¹ПИРОГОВ В. О., ²КОРДЮМ В. А., ¹МИГАЛЬ Л. Я.,
²ПОХОЛЕНКО Я. О., ¹СЕРБИНА І. Є., ¹НІКІТАЄВ С. В., ²ДУБЕЙ І. Я.

¹ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ;

²Інститут молекулярної біохімії та генетики НАН України, Київ;

e-mail: 0675076531@ukr.net

Виникнення та розвиток гіпоксичних процесів в нирках внаслідок порушення внутрішньониркової гемодинаміки незмінно супроводжують хвороби нирок як вродженої (аномалії сечових шляхів), так і набутої (сечокам'яна хвороба, пієлонефрит, гломерулонефрит тощо) етіології. Тому вивчення проблеми захисту нирок від патологічного впливу гіпоксії, передусім на метаболічному рівні, залишається актуальним і важливим для розробки патогенетично обґрунтованого лікування нефропатій в пацієнтів. Відомо, що експериментальні дослідження нових фармакологічних препаратів завжди передують їх клінічним випробуванням. Так, в дослідях на кролях доведено (О. Ф. Возіанов зі співавт., 2007), що за ішемії нирки одним із можливих шляхів корекції судинного русла та кровообігу органа є застосування ін'єкцій препарату основного фактора росту фібробластів (ФРФ). Однак недоліком цієї рекомендації була відсутність вказівок щодо впливу ФРФ на метаболічні процеси нирок, що є об'єктивним критерієм оцінки ефективності препарату як засобу протиішемічного захисту органа у разі патології.

Мета роботи – вивчити активність β -галактозидази в тканині нирки як біомаркера структурно-функціонального стану каналцевого апарату нефрона за експериментально змодельованій ішемії та після введення ФРФ для корекції ниркового кровообігу. Дослідження проведено в лабораторії біохімії та лабораторії нейроурології ДУ «Інститут урології НАМНУ», у відділі регуляторних механізмів та відділі синтетичних біорегуляторів Інституту молекулярної біохімії та генетики НАНУ на статевозрілих кролях масою $3,2 \pm 0,05$ кг. Досліди проводили з використанням наркозу. Група 1 – 3 здорових кролі (6 нирок). Контрольна група 2 складалась з 10 кролів з експериментально змодельованою ішемією лівої нирки, яка розвинулась через 3,5–6 місяців після накладання лігатури на її верхній полюс (права контрлатеральна нирка залишалась інтактною). Дослідна група 3 – 9 кролів, яким у ліву нирку з розвинутою ішемією вводили підшкірно розчин ФРФ в дозі 5 мкг, виходячи з діапазону 0,2–20 мкг, на молекулярному носії – гідрогелі об'ємом 200 мкл.

У гомогенаті тканини коркового шару нирок визначали активність лізосомного ензиму нефротелію β -галактозидази як біомаркера стану нирки за розробленим нами методом (Л. Я. Мигаль зі співавт., 2009). Одержані результати показали, що в групі 1 у здорових кролів активність β -галактозидази в корковому шарі становить $18,43 \pm 1,17$ мкмоль індикатора за 1 год інкубації при 37°C в розрахунку на 1 г сирової тканини. У кролів контрольної групи 2 рівень β -галактозидази в лівій ішемізованій нирці дорівнював $13,34 \pm 0,81$, що є статистично вірогідно нижче ($P < 0,001$) порівняно з аналогічним показником ензиму в нормі (група 1), а також порівняно з інтактною правою ниркою ($18,44 \pm 1,67$, $P < 0,02$) у піддослідній тварини. В дослідній групі 3 після введення ФРФ в ішемізовану ліву нирку спостерігається значне підвищення активності цього ензиму порівняно із «чистою» ішемією – до $19,4 \pm 0,67$ ($P < 0,001$), що практично відповідає нормі. За результатами нормалізації показника активності β -галактозидази в ішемізованій нирці під дією ФРФ як засобу корекції порушень кровообігу, можна вважати, що досліджуваний препарат позитивно впливає на метаболізм і функцію нирки в умовах патології і попереджає розвиток гіпоксичних ушкоджень, що може слугувати експериментальним обґрунтуванням нового підходу до захисту нирки у разі патології за допомогою ФРФ.

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ НОВЫХ СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РАЗНЫЕ ФРАКЦИИ КЛЕТОК КРОВИ

ОВСЯННИКОВА Т. Н., ДЯЧЕНКО В. Д., КОВАЛЕНКО А. А., БИРЮКОВ Д. Ю.

*Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: ta_ov10@mail.ru*

Селен относится к эссенциальным элементам и имеет большое метаболическое значение для организма как компонент активного центра глутатионпероксидаз [1.11.1.9/12]. Имеются данные об органических соединениях с селеном, показывающих пероксидазную активность. Эритроциты и лейкоциты являются качественно различными объектами в плане анти/прооксидантных свойств: лейкоциты способны генерировать «кислородный взрыв», в эритроцитах же высока активность глутатионзависимой антиоксидантной системы. В связи с этим представляло интерес исследовать особенности образования продуктов пероксидного окисления липидов (ПОЛ) в разных фракциях клеток крови здоровых доноров в присутствии новых органических селеносодержащих соединений с различной конформацией и функциональными заместителями.

Первичные продукты ПОЛ в суспензиях эритроцитов и лейкоцитарно-тромбоцитарной массе крови десяти здоровых доноров – диеновые, оксодиеновые, триеновые и тетраеновые конъюгаты жирных кислот (ДК, ОДК, ТК и ТЕ, соответственно) измерялись спектрофотометрически после экстракции проб в смеси гептан:изопропанол. Расчет концентраций проводили с использованием величины коэффициентов молярной экстинкции (ϵ_0) продуктов в соответствии с законом Ламберта–Бэра (за исключением ТЕТ, для которого ϵ_0 не определен). Образцы инкубировали с добавлением в каждую пробу одного из пяти новых синтетических селеносодержащих органических соединений (№ 4–8), имеющих в своем составе пиридиновые, ароматические, тиофенильные структуры с разными заместителями – галогенами, алифатическими, амино- и карбонильными группами. Соединения, обладающие гидрофобными свойствами, растворялись в диметилсульфоксиде (ДМСО). Молекулярные массы соединений – от 227 до 427 у.е., конечные концентрации добавок в пробах $1 \cdot 10^{-6}$ М, время инкубации – 30 мин. при комнатной температуре. Образцы для сравнения – суспензии клеток, имеющие вместо активных добавок ДМСО в эквивалентном количестве, и инкубированные, как и опытные.

Величины контрольных показателей конъюгатов жирных кислот отличались у двух сравниваемых нами объектов: в лейкоцитарно-тромбоцитарной массе они были выше, чем в эритроцитах, за исключением ТЕТ (соответственно: ДК – $154,1 \pm 20,3$ vs $9,5 \pm 0,7$ нмоль/мл; ТК – $11,09 \pm 1,11$ vs $6,13 \pm 0,88$ нмоль/мл; ОДК – $23,54 \pm 0,31$ vs $8,45 \pm 1,07$ нмоль/мл; ТЕТ ($0,36 \pm 0,01$) $\cdot 10^{-3}$ ед. абс. Это может свидетельствовать о высоком уровне прооксидантных систем в клетках лейкоцитарно-тромбоцитарной массы, прежде всего, за счет нейтрофилов, способных к генерации «кислородного взрыва». Инкубация образцов клеток крови с соединениями привела к повышению показателей ПОЛ почти во всех пробах, но в разной мере. Изменения зависят от величины и компактности молекул соединений, а также от наличия функциональных заместителей. Так, соединения 6 и 8 имеют самую малую массу и отличаются лишь наличием двух аминогрупп у № 8 вместо циклогексанового кольца у № 6. При этом № 8 увеличивает генерацию ДК, ТК и ТЕТ примерно в 10–20 раз и в 50 раз – ОДК в лейкоцитарно-тромбоцитарной массе, что действительно похоже на «взрыв». В эритроцитах при № 8 уровень всех продуктов вырос в 5–8 раз. Присутствие № 6 увеличило лишь уровень ДК во всех образцах, что, вероятно говорит о его локализации в наружных слоях мембраны клеток за счет связывания аминогрупп с карбоксильными группами периферических белков мембран. Полученные данные показали, что изучаемые соединения могут быть как мембрано-модулирующими веществами, так и внутриклеточными эффекторами, и при дополнительном расширенном их исследовании имеют перспективу в фармакологии, медицине и биотехнологии.

НВ-EGF-СПЕЦИФІЧНІ ІМУНОЛІПОСОМИ ДЛЯ СПРЯМОВАНОЇ ДОСТАВКИ ПРОТИПУХЛИННИХ ПРЕПАРАТІВ

ОЛІЙНИК О. С., ЛАБИНЦЕВ А. Ю., КОЛИБО Д. В., КОМІСАРЕНКО С. В.

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

e-mail: lenaoliinyk@mail.ru

Більшість протипухлинних препаратів діють не лише на пухлинні, але й на нормальні клітини, що призводить до побічних ефектів та лімітує допустиму терапевтичну дозу. Це стимулює активні дослідження, спрямовані на розробку засобів для адресної доставки препаратів безпосередньо в зону пухлини. Зокрема, ефективними транспортувальними векторами є ліпосоми. Вони здатні вміщувати достатньо велику кількість терапевтичного агента, тривалий час циркулюють у кровотоці та, маючи діаметр в діапазоні 50–300 нм, повільно проникають крізь нормальний ендотелій, зате накопичуються у зоні пухлин, діаметр судинних пор яких становить 100–600 нм. Імуноліпосоми – це ліпосоми, що несуть ліганди, специфічні до певної мішені на поверхні пухлинних клітин. Хоча звичайні ліпосоми акумулюються в ділянках пухлин, вони переважно розміщені в стромальній зоні та всередині тканинних макрофагів, натомість імуноліпосоми проникають безпосередньо всередину клітин та рівномірно розподіляються по всьому об'єму пухлини. Метою цієї роботи було одержати імуноліпосоми, специфічні до НВ-EGF – гепаринзв'язувального EGF-подібного фактора росту. НВ-EGF широко представлений на поверхні клітин пухлин різного походження, тому може розглядатись як перспективна мішень для створення векторів адресної доставки протипухлинних препаратів.

Для приготування ліпосом використовували ліпідну композицію із соєвого фосфатидилхоліну, холестеролу та функціоналізованих пегільованих похідних фосфатидилетаноламіну в молярному співвідношенні 65 : 30 : 5. Ліпосоми одержували шляхом гідратування висушеної ліпідної плівки. Одержану суспензію обробляли ультразвуковим дезінтегратором та пропускали через фільтр із діаметром пор 100 нм. Для одержання імуноліпосом було сконструйовано бібліотеку одноланцюгових варіабельних фрагментів антитіл (scFv) миші, імунізованої рекомбінантним НВ-EGF та виділено клон-продуцент scFv-антитіл, специфічних до цього антигену. scFv-Антитіла використано як ліганд, що забезпечував специфічність ліпосом до НВ-EGF. У послідовність scFv-антитіл було введено додатковий С-термінальний цистеїн, що дозволило проводити кон'югацію scFv із малеїмідною групою функціоналізованого похідного фосфатидилетаноламіну. У такий спосіб scFv-антитіла до НВ-EGF приєднували до поверхні ліпосом та одержували НВ-EGF-специфічні імуноліпосоми.

На клітинах лінії Vero, що оверекспресують НВ-EGF, було оцінено специфічне зв'язування, інтерналізацію та цитотоксичність одержаних імуноліпосом. Методами протокової цитофлуориметрії та флуоресцентної мікроскопії показано, що НВ-EGF-специфічні імуноліпосоми, на відміну від контрольних, ефективно зв'язувались та поглинались клітинами-мішенями. В тесті *in vitro* навантажені доксорубіцином НВ-EGF-специфічні імуноліпосоми показували значно вищу цитотоксичність до цільових клітин, ніж контрольні навантажені доксорубіцином ліпосоми.

Одержані результати показують, що НВ-EGF-специфічні імуноліпосоми є перспективним вектором для адресної доставки терапевтичних препаратів до клітин, на поверхні яких представлений НВ-EGF.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОМЫШЛЕННО-ЦЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В БИОМАССЕ *Spirulina platensis*, ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКОВ ВЫРАЩИВАНИЯ

¹ОЛЬХОВИЧ О., ²ЛОЕСТ К., ¹СИТАР О., ²ШТОРАНДТ Р.,
¹ПАЦКО О., ¹ТАРАН Н., ²ВАЛДЕК П.

¹ННЦ «Институт биологии», Киевский национальный университет
имени Тараса Шевченка, Украина;

²Институт переработки зерна, Нутеталь, Германия;
e-mail: oolga2005@ukr.net

В настоящее время в питании человека широко используются продукты, получаемые из природных объектов биотехнологическим путем. Одним из таких ценных объектов является *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler. Спирулину, в первую очередь, рассматривают как источник протеина с полным составом незаменимых аминокислот, однако одновременно она содержит такие ценные фитонутриенты как хлорофиллы, каротиноиды и сульфолипиды, которые обладают выраженными антиоксидантными свойствами. Спирулина, выращенная в природных и искусственных условиях, может иметь разный биохимический состав ценных компонентов, используемых в промышленности. Именно поэтому целью наших исследований было проведение сравнительного анализа содержания протеина, аминокислот, пигментов (хлорофиллов, каротиноидов) и сульфолипида в образцах водорослей, предоставленных отделом биотехнологии Института переработки зерна г. Нутеталь, выращенных в искусственных условиях лабораторных фотобиореакторов (*Spirulina LAB STDZ*), открытых прудов (*S. Premium II*, *S. Premium+*) и природных водоемов (*S. Natur*). Определение содержания протеина проводили биуретовым методом. Содержание пигментов и сульфолипида определяли спектрофотометрически на спектрофотометре «Shimadzu UV-1800». Расчет сульфолипида проводили по калибровочной кривой додецилсульфата натрия по методу Кина. Содержания аминокислот определяли методом тандемной масс-спектрометрии с помощью масс-спектрометра AB Sciex 2000 с автосамплером Ultimate 3000 (Dionex). По содержанию протеина лидировала *S. Natur* (0,68 г/г). Из 17 идентифицированных у *S. Natur* аминокислот содержание 14, среди которых 5 незаменимых (валин, триптофан, фенилаланин, метионин и лейцин) оставалось самым высоким. Самое низкое содержание аминокислот отмечено у *S. LAB STDZ*. Общее содержание хлорофиллов было высоким у всех искусственно выращенных водорослей, при этом наибольшим у *S. LAB STDZ* (11,9 мг/г), в 2 раза ниже (6,1 мг/г) в биомассах водорослей – *S. Premium II* и *S. Premium+* и самым низким (4,9 мг/г) у выращенной в природных условиях *S. Natur*. Наибольшее содержание каротиноидов выявлено у *S. LAB STDZ* (2,2 мг/г), а наименьшее (1,3 мг/г) у *S. Premium+*. У *S. Premium II* и *S. Natur* эти показатели имели промежуточные значения (1,6 и 1,4 мг/г соответственно). Увеличение содержания фотосинтезирующих пигментов в лабораторных условиях может быть следствием увеличения интенсивности или периода освещения по сравнению с природными условиями. Наибольшее значение содержания сульфолипида (2,97 мг/г) было одновременно у двух видов водорослей, выращенных в лабораторных условиях – *S. Premium II* и *S. Premium+*. Оно превышало значение этого показателя у *S. Natur* (0,77 мг/г) больше, чем в 3 раза. У *S. LAB STDZ* содержание сульфолипида было невысоким – 1,12 мг/г. Таким образом, нами подтверждено, что биомасса водоросли, выращенной в искусственных условиях как открытых прудов, так и лабораторных фотобиореакторов, существенно отличалась по исследуемым биохимическим показателям не только от *S. Natur*, отобранной из природных условий, но и между собой, что свидетельствует о важности подбора условий выращивания для получения повышенного содержания необходимых промышленно ценных продуктов из биомассы спирулины.

ІНДУКЦІЯ КАЛЮСУ ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО В КУЛЬТУРІ АПІКАЛЬНИХ МЕРИСТЕМ ПАГОНІВ

¹ПІКАЛО С. В., ²ДУБРОВНА О. В.

¹Миронівський інститут пшениці ім. В. М. Ремесла

НААН України, Київська обл.;

²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ;

e-mail: pykserg@ukr.net

На сьогодні біотехнологічні методи широко використовуються для вирішення прикладних завдань селекції цінних сільськогосподарських культур і, зокрема, тритикале. Злаки – важкий об’єкт. Складність одержання калюсної тканини з точки зору експериментальної біотехнології, у злаків порівняно із дводольними обумовлюється нездатністю утворювати раневий калюс в природних умовах. Інтенсивність процесів калюсогенезу в культурі *in vitro* тритикале значною мірою визначається типом експлантата. Перевагою використання як експлантат апікальної меристеми пагонів є можливість подолання генотипових особливостей форм, що характеризуються низьким регенераційним потенціалом, а також можливість одержання значної кількості вихідного матеріалу за короткий час. Культуру апікальних меристем широко використовують як джерело калюсної тканини для клітинної селекції та генетичної трансформації рослин, оскільки меристемні сегменти пагонів містять пул клітин, що активно діляться і характеризуються високою частотою індукції калюсу. У зв’язку з цим метою роботи було дослідження особливостей процесів калюсогенезу в культурі апікальних меристем пагонів тритикале озимого.

Матеріалом досліджень були сорти тритикале озимого Обрій, Миролан, АДМ 11, лінії 38/1296, 1324 та гібрид F₂ 809, з робочої колекції МІП ім. В. М. Ремесла НААНУ. Для одержання донорних рослин насіння стерилізували 1%-им розчином KMnO₄ протягом 3 хв. Потім впродовж 2 хв його витримували у 1%-му розчині AgNO₃ і поміщали у 96%-й етанол на 1 хв. Кінцевим етапом стерилізації було 3-разове промивання стерильною дистильованою водою. Простерилізоване насіння пророщували на світлі при 24 °С на безгормональному середовищі Мурасіге-Скуга. Як експлантат використовували апікальну меристему пагона 3-добових стерильних проростків. Для кожного генотипу було взято по 160 експлантатів. Культуру калюсної тканини одержували на середовищі Мурасіге-Скуга, яке додатково містило L-аспарагін – 150 мг/л, AgNO₃ – 10 мг/л та 2 мг/л 2,4-Д. Експлантати культивували при 26 °С в темряві впродовж трьох тижнів. Потім їх переносили на світло і далі вирощували за освітлення 3–4 клк, відносній вологості повітря 70% і 16-годинному фотоперіоді ще два тижні. Частоту індукції калюсу визначали як співвідношення числа експлантатів, які утворили калюс, до загального числа експлантатів. Експериментально одержані дані обробляли за допомогою методів статистичного аналізу.

Початок калюсогенезу в деяких досліджуваних генотипів відбувається вже на третю – четверту добу культивування. Під час досліджень спостерігали утворення прозорого світлого калюсу аморфної консистенції. За морфологічними властивостями було виявлено два його типи: морфогенний калюс – щільний, жовтуватий, глобулярний, і неморфогенний – пухкий, водянистий, прозорий. Нами було встановлено, що всі досліджувані генотипи характеризуються різною здатністю до утворення калюсу. Так, найбільша частота індукції калюсу була зафіксована в лінії 38/1296 – 95,4%, а також у сорту Обрій – 90,7%. Найменша частота – у лінії 1324 і сорту АДМ 11 – по 78,6 і 68,6% відповідно. Генотипи Миролан та F₂ 809 за калюсогенним потенціалом займали проміжне положення.

Внаслідок роботи встановлено, що з використанням культури апікальних меристем пагонів тритикале найбільшою частотою калюсогенезу характеризується лінія 38/1296 та сорт Обрій. Саме ці генотипи можна рекомендувати для подальших робіт, пов’язаних із біотехнологією тритикале озимого, зокрема генетичної інженерії та клітинної селекції.

**ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
Acinetobacter calcoaceticus IMB В-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB АС-5017
И *Nocardia vaccinii* IMB В-7405 НА ДЕСТРУКЦИЮ КОМПЛЕКСНЫХ
С ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ**

ПИРОГ Т. П., КОНОН А. Д., СОФИЛКАНИЧ А. П.

*Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина;
e-mail: tapirog@nuft.edu.ua*

Данные литературы свидетельствуют, что загрязнения в экосистемах чаще всего являются комплексными (например, одновременное наличие как нефти, так и катионов тяжелых металлов), поэтому поиск и разработка методов очистки, позволяющих удалять такие комбинированные загрязнения, актуальны. На сегодня наиболее эффективными для очистки экосистем от нефти и тяжелых металлов считаются биологические методы, основанные на использовании микроорганизмов и продуктов их метаболизма, в частности, поверхностно-активных веществ (ПАВ).

Цель работы – исследовать влияние ПАВ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB АС-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB В-7405 на эффективность деструкции комплексных с тяжелыми металлами нефтяных загрязнений.

На первом этапе исследовали деструкцию нефти в воде (3,5 г/л), содержащей различные концентрации катионов меди (0,01–1,0 мМ), после обработки её культуральной жидкостью *A. calcoaceticus* IMB В-7241, *R. erythropolis* IMB АС-5017 и *N. vaccinii* IMB В-7405. Установлено, что через 20 сут дегградация нефти на 15–20% выше в вариантах, содержащих Cu^{2+} . Анализ микробиоты воды в течение эксперимента показал увеличение численности клеток во всех вариантах, однако в присутствии катионов меди и препаратов ПАВ количество клеток в 1,3–1,5 раза выше, чем без Cu^{2+} .

На следующем этапе исследовали возможность применения культуральной жидкости штамма IMB АС-5017 для очистки воды, содержащей нефть и катионы нескольких токсичных металлов (Cu^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+} в различных комбинациях). Показано, что степень деструкции нефти через 20 сут является максимальной в вариантах с Cu^{2+} (55–75%), в то время как в присутствии Cd^{2+} и Pb^{2+} наблюдается деструкция всего 30% нефти. В присутствии ПАВ *A. calcoaceticus* IMB В-7241 степень деструкции нефти (6,0 г/л) в воде, содержащей Cu^{2+} (1,0 мМ) и Cd^{2+} (0,5 мМ), через 30 сут при температуре 20–22 °С составляет 85–88%.

Дальнейшие исследования дегградации нефти в почве (21,4 г/кг), загрязненной несколькими токсичными металлами (Cu^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+}), показали, что после обработки препаратами поверхностно-активных веществ *R. erythropolis* IMB АС-5017 степень деструкции в присутствии Cu^{2+} составляет 88–92%, а без катионов меди – 33–45%.

Предполагается, что интенсификация деструкции нефтяных загрязнений в присутствии ПАВ и Cu^{2+} обусловлена стимуляцией аборигенной микробиоты в результате солюбилизации нефти, активацией катионами меди алкангидроксилаз как штаммов-продуцентов ПАВ, так и природной нефтеокисляющей микробиоты, а также защитными функциями ПАВ.

Таким образом, в результате проведенной работы показана высокая эффективность применения невысоких концентраций препаратов ПАВ *A. calcoaceticus* IMB В-7241, *R. erythropolis* IMB АС-5017 и *N. vaccinii* IMB В-7405 в виде культуральной жидкости для очистки воды и почвы от нефти в присутствии катионов токсичных металлов.

**МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ И ГЛИЦЕРОЛА У ПРОДУЦЕНТА
ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
Nocardia vaccinii IMB B-7405**

ПИРОГ Т. П., БЕРЕГОВАЯ К. А., ГРИЦЕНКО Н. А.

Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина;
e-mail: tapirog@nuft.edu.ua

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) широко используются в различных отраслях промышленности, в связи с чем спрос на синтетические ПАВ постоянно растет. Вместе с тем темпы развития биотехнологии на современном этапе и повышение внимания к сохранению окружающей среды обусловили большой интерес исследователей к микробным ПАВ как альтернативе химическим аналогам.

В предыдущих исследованиях (Кудря Н., Пирог Т. 2013) нами была показана возможность интенсификации синтеза ПАВ при культивировании *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 на смеси ростовых субстратов (гексадекан и глюкоза, этанол и глюкоза, гексадекан и глицерол, глюкоза и глицерол). Установлено, что максимальные показатели синтеза ПАВ наблюдались на смеси глицерина и глюкозы и были в 2–3,5 раза выше, чем на соответствующих моносубстратах. При культивировании микроорганизмов на смешанных субстратах для обеспечения максимальной конверсии углерода в целевой продукт необходимо установление оптимального для его синтеза молярного соотношения концентраций моносубстратов в смеси. А это, в свою очередь, требует проведения теоретических расчетов энергетических потребностей синтеза ПАВ и биомассы на энергетически дефицитном субстрате с последующим определением концентрации энергетически избыточного субстрата, восполняющей энергетические расходы на этот процесс. Для осуществления таких теоретических расчетов необходимо знать пути метаболизма соответствующих моносубстратов у продуцентов ПАВ.

Цель данной работы – исследовать пути метаболизма глюкозы и глицерола у продуцента ПАВ *N. vaccinii* IMB B-7405.

Установлено, что у *N. vaccinii* IMB B-7405 глюкоза окисляется до глюконата FAD⁺-зависимой глюкозодегидрогеназой (активность FAD-зависимой глюкозодегидрогеназы 698 ± 35 нмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ протеина), образовавшийся глюконат при участии глюконокиназы превращается в 6-фосфоглюконат, который вовлекается в пентозофосфатный цикл с помощью конститутивной NADP⁺-6-фосфоглюконатдегидрогеназы (активность 357 ± 17 нмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ протеина). Следовательно, у штамма IMB B-7405 (в отличие от большинства микроорганизмов) пентозофосфатный цикл является основным путем катаболизма глюкозы.

У микроорганизмов, использующих глицерол в качестве источника углерода и энергии, этот субстрат может ассимилироваться двумя различными путями. Первый путь начинается с АТР-зависимого фосфорилирования глицерола, катализируемого глицеролкиназой, с образованием глицерол-3-фосфата, который затем окисляется до дигидроксиацетонфосфата при участии глицерол-3-фосфатдегидрогеназы или глицерол-3-фосфатоксидазы (глицерол-3-фосфатный путь). Во втором варианте катаболизма глицерин окисляется до дигидроксиацетона глицеролдегидрогеназами. Образовавшийся дигидроксиацетон затем фосфорилируется до дигидроксиацетонфосфата при участии дигидроксиацетонкиназы (дигидроксиацетоновый путь).

Наши эксперименты показали, что катаболизм глицерола до дигидроксиацетонфосфата у штамма IMB B-7405 может осуществляться двумя путями: через глицерол-3-фосфат и через дигидроксиацетон. Окисление глицерола до дигидроксиацетона у штамма IMB B-7405 катализируется пирролохинолинхинонзависимой глицеролдегидрогеназой и нитрозо-N,N-диметиланилинзависимой алкогольдегидрогеназой (256 и 550 нмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ протеина соответственно).

Полученные данные являются исходными для проведения теоретического расчета оптимального молярного соотношения глюкозы и глицерола в смешанном субстрате для интенсификации биосинтеза ПАВ штаммом *N. vaccinii* IMB B-7405.

БІОКОНВЕРСІЯ ВІДПРАЦЬОВАНОЇ СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ В МІКРОБНІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНІ РЕЧОВИНИ МУЛЬТИФУНКЦІОНАЛЬНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ

ПИРОГ Т. П., БЕРЕГОВА Х. А., ГРИЦЕНКО Н. А.

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна;
e-mail: tapirog@nuft.edu.ua

Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) можуть широко використовуватись у різноманітних галузях промисловості (природоохоронні технології, харчова промисловість, сільське господарство, медицина), оскільки мають низку переваг перед синтетичними аналогами. Проте промислове виробництво мікробних ПАР у світі стримується великими витратами на біосинтез, виділення і очищення цільового продукту, а також низькою концентрацією синтезованих ПАР. Одним із способів здешевлення технології одержання цих продуктів є використання промислових відходів, зокрема пересмаженої (відпрацьованої) соняшникової олії.

У попередніх дослідженнях із забруднених нафтою зразків ґрунту і води нами було виділено нафтоокислювальні бактерії, ідентифіковані як *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 та *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 і встановлено здатність цих штамів синтезувати метаболіти з поверхнево-активними і емульгувальними властивостями під час росту на різних гідрофобних (гексадекан, рідкі парафіни) і гідрофільних субстратах (глюкоза, етанол).

Мета роботи – дослідити можливість використання пересмаженої соняшникової олії як субстрату для синтезу ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 і *N. vaccinii* ІМВ В-7405 та визначити шляхи практичного використання ПАР.

Дослідження показали, що в умовах росту *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 і *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на відпрацьованій соняшниковій олії показники синтезу ПАР були вищими, ніж на традиційних субстратах (*n*-гексадекан, гліцерол та етанол). На основі даних про хімічний склад ПАР (основним компонентом є трегалозоміколати) припустили, що внесення в середовище з пересмаженою соняшниковою олією глюкози буде супроводжуватись інтенсифікацією синтезу ПАР. Дійсно, добавлення 0,1% глюкози підвищує у 2–4 рази концентрації ПАР порівняно з показниками на середовищі без глюкози.

Подальші експерименти показали можливість використання препаратів ПАР у вигляді постензиматичної культуральної рідини (5–10%, об'ємна частка) для очищення води і ґрунту від нафтових забруднень. Показано, що ступінь деструкції нафти у воді (2,6 г/л) становить 81–95%. Після обробки ґрунту культуральною рідиною штамів ІМВ Ас-5017, ІМВ В-7241 і ІМВ В-7405 ступінь деструкції нафти (20 г/кг) дорівнює 95–98% на 30-ту добу.

На наступному етапі досліджували антимікробні та антиадгезивні властивості ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 і *N. vaccinii* ІМВ В-7405. Показано, що після обробки впродовж 2 год препаратами ПАР (0,15–0,4 мг/мл) штамів ІМВ Ас-5017 та ІМВ В-7241 виживання клітин (10^5 – 10^7 в мл) фітопатогенних бактерій родів *Pseudomonas*, *Xantomonas* і *Pectobacterium* становить 0–33%. У присутності ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405 кількість клітин досліджуваних фітопатогенних бактерій знижується на 97–100%. Обробка медичних матеріалів та абіотичних поверхонь розчинами ПАР штамів ІМВ В-7405 (0,005–0,05 мг/мл), ІМВ В-7241 (0,003–0,036 мг/мл), ІМВ Ас-5017 (0,03–0,12 мг/мл) супроводжується зниженням адгезії бактерій на 80–85, дріжджів на 55–90 і мікроміцетів 40–50% відповідно.

Отже, внаслідок результату проведених досліджень встановлено можливість використання пересмаженої соняшникової олії як дешевого субстрату для одержання мікробних ПАР, які можуть бути використані в природоохоронних технологіях, а також як антимікробні та антиадгезивні агенти.

TESTING THE METAL-BIORECOGNIZING ABILITY OF DESFERAL TO BE USED IN BIOSENSORICS

¹PROKOPIV T., ¹SMUTOK O., ^{1,2}GONCHAR M.

¹Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;

²Institute of Applied Biotechnology and Basic Sciences,

Rzeszow University, Kolbuszowa, Poland;

e-mail: tetyanaprokopiv@gmail.com

Desferal (desferrioxamine B) is a hexadentatechelating ligand, which binds to Fe(III) with a stability constant near 10^{31} . It binds much more weaker Fe(II) ions (stability constant is 10^7) and some first row transition metals (K_b is in the range from 10^{10} to 10^{15}). Desferal was first extracted from *Streptomyces pilosus*, where it is a natural iron chelator. In our work we have used Desferal, obtained from Sigma Aldrich.

The complexation of Fe(III) ions with Desferal bound with gold nanoparticles was investigated. It was shown that in presence of gold nanoparticles, the typical absorption peak of desferal/Fe(III) complex is significantly increased, that is, possibly, related with plasmon phenomenon.

The electrochemical properties of Desferal as a perspective element for construction of iron-selective amperometric biosensor have been investigated. Electrochemical studies were performed using constant-potential amperometry in a three-electrode configuration. Using cyclic voltamperometry, it was shown that the peak of electrochemical oxidation of Desferal corresponds to + 500 mV vs Ag/AgCl reference electrode. Subsequent additions of Fe(III) ions to electrochemical cell in the presence of Desferal result in a decrease of Desferal oxidation peak. This effect is tightly correlated with concentration of Fe(III) ions in solution and could be used as a base for construction of Fe(III)-selective biosensor.

This research was supported in part by Cross-Border Cooperation Programme Poland-Belarus-Ukraine 2007–2013, project IPBU.03.01.00-18-452/11-00 and by NATO Project CBP.NUKR.SFP 984173.

ЗАСТОСУВАННЯ ФЕРОМАГНІТНИХ НАНОЧАСТИНОК ДЛЯ ІММОБІЛІЗАЦІЇ ЕНЗИМІВ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ КЛІТИН РЕКОМБІНАНТНИХ ШТАМІВ ДРІЖДЖІВ

¹ПРОКОПІВ Т. М., ¹ЗАКАЛЬСЬКА О. М., ¹ЗАКАЛЬСЬКИЙ А. Є.,

¹КАРКОВСЬКА М. І., ¹СЕРКІЗ Р. Я., ^{1,2}ГОНЧАР М. В.

¹Інститут біології клітини НАН України, Львів;

²Інститут прикладної біотехнології і фундаментальних наук,

Жешувський університет, Кольбушова, Польща;

e-mail: tetyanaprokopiv@gmail.com

В останні роки магнітні нано- і мікрочастинки та композити стали ключовими матеріалами в різних галузях (екологічна реабілітація, біомедицина, мічення клітин, імуномагнітне розділення, магніто-резонансна томографія, цільова доставка ліків та ін.). Такий інтерес до магнітних наночастинок (НЧ) зумовлений перспективою їх широкого застосування у зв'язку із низькою токсичністю та високою намагніченістю. Це робить можливим видалення магнітних наночастинок із іммобілізованими біологічними компонентами (зокрема, ензимами) з реакційної суміші, що полегшує процедуру аналізу та можливість повторного використання біокомпонента.

У ролі носіїв для іммобілізації ензимів, виділених із клітин рекомбінантних штамів дріжджів, використовували феромагнітні наночастинки, синтезовані шляхом гідролізу суміші хлоридів заліза (II) і (III) за допомогою розчину гідроксиду амонію. Для іммобілізації ензимів поверхню магнетитів попередньо функціоналізували 3-амінопропілтріетоксисиланом (АПТЕС) із наступною модифікацією

глутаровим альдегідом. Очищені препарати аргінази I і флавоцитохрому (ФЦ) b_2 (кінцева концентрація протеїну 0,05 мг·мл⁻¹) були іммобілізовані на поверхні обох типів функціоналізованих магнітних НЧ.

Вихідні та біофункціоналізовані феромагнітні наночастинки проаналізовано за допомогою скануючої електронної мікроскопії (SEM) та атомно-силової мікроскопії (АСМ). Аналіз АСМ виявив сферичні феромагнітні НЧ із середнім розміром 30 нм. Очищений препарат ФЦ b_2 , виділений з клітин рекомбінантного штаму *Hansenula polymorpha* «tr1», з активністю 42,5 Од·мл⁻¹, використаний для іммобілізації на поверхні НЧ. Після іммобілізації ФЦ b_2 , розміри біонаночастинок збільшувались до 100 нм. Вихід іммобілізованого ФЦ b_2 становив 15%, що відповідає 1,5 Од·мл⁻¹. Аналіз стабільності препарату під час зберігання протягом 12 днів виявив 60% активності.

Для іммобілізації використовували теж очищену (His)₆-таговану аргіназу I людини, виділену із рекомбінантного штаму *Saccharomyces cerevisiae* W303 з активністю 181 Од·мл⁻¹. Вихід іммобілізованої аргінази I становив 75%.

Досліджено вплив НЧ на каталітичні властивості двох ензимів – ФЦ b_2 (оксидоредуктази) та аргінази I (гідролази). Вивчається можливість повторного використання магнітних ензимо-НЧ в біоаналітичному аналізі.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ РЕКОМБІНАНТНОГО ПОВЕРХНЕВОГО ПРОТЕЇНУ А *Staphylococcus aureus* ІЗ ДОДАТКОВИМ ЗАЛИШКОМ ЦИСТЕЇНУ ТА ІМУНОГЛОБУЛІНІВ ДЛЯ РОЗРОБКИ ІМУНОБІОСЕНСОРІВ НА ОСНОВІ ПОВЕРХНЕВОГО ПЛАЗМОННОГО РЕЗОНАНСУ

¹РАЧКОВ О. Е., ²БАХМАЧУК А. О., ^{1,3}МАЦИШИН М. Й., ¹ГОРБАТЮК О. Б.,
²ФІЛІПЕНКОВА Н. Г., ⁴ХРИСТОСЕНКО Р. В., ^{1,3}СОЛДАТКІН О. П.

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;
e-mail: oleksandr_rachkov@yahoo.com;

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології», Україна;

³Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
Інститут високих технологій, Україна;

⁴Інститут фізики напівпровідників ім. В. Є. Лашкарьова НАН України, Київ

У вирішенні нагальних потреб суспільства значне місце займає необхідність здійснювати контроль навколишнього середовища та якості продуктів харчування, діагностику захворювань людей та свійських тварин тощо. Для цих цілей в багатьох випадках могли б підійти такі засоби сучасної аналітичної біотехнології як біосенсори. Їх конструктивною особливістю є поєднання біоселективного елемента, який специфічно реагує з досліджуваним аналітом, і фізичного перетворювача, який трансформує результат біологічного процесу в зручний для подальшої обробки та характеристики електричний сигнал.

На жаль, за створення імуносенсорів безпосередня іммобілізація антитіл на поверхні біосенсорних перетворювачів, зазвичай, супроводжується істотним зниженням їх антигензв'язувальної активності. Головними причинами цього вважають випадкову орієнтацію іммобілізованих на сенсорній поверхні антитіл та стеричні обмеження для взаємодії антиген-антитіло. Щоб запобігти цьому, можна було б сформувати проміжний шар, який включав би в себе такий імуноглобулінзв'язувальний протеїн як поверхневий протеїн А *Staphylococcus aureus* (SPA). Створення рекомбінантного SPA модифікованого додатковим цистеїном (SPA-Cys), що завдяки експонованій SH-групі активно взаємодіє з золотою сенсорною поверхнею, дозволяє підвищити сконструйовано генно-інженерний рекомбінантний протеїн SPA-Cys, який містить п'ять імуноглобулінзв'язувальних доменів, послідовність олігогістидину (6His-

tag) для його хроматографічної очистки та С-кінцевий залишок цистеїну. Препаративна кількість SPA-Cys була отримана біосинтезом в *E. coli* в розчинній формі.

Спектроскопія поверхневого плазмонного резонансу (ППР) є методом, що дозволяє дослідження взаємодій між біомакромолекулами без застосування будь-яких молекулярних міток. Якщо на сенсорній поверхні такого приладу іммобілізувати молекули одного з імунореагентів, то (за наявності молекул-партнерів в досліджуваному зразку) на ній буде відбуватися процес формування імунного комплексу. У свою чергу, це призводить до зміни діелектричних властивостей сенсорної поверхні, що і спричинює прямий відгук сенсора в режимі реального часу.

Обговорюються експериментальні результати дослідження взаємодії SPA-Cys та імуноглобулінів, одержані методами ІЕА та ППР. На основі найпростішої моделі зв'язування аналіту з іммобілізованим лігандом у співвідношенні 1 : 1, в рамках якої кількість утворених комплексів визначається ізотермою Ленгмюра, написана комп'ютерна програма, що дозволяє визначати як рівноважну константу дисоціації, так і константи швидкостей асоціації та дисоціації імунних комплексів.

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ В ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАБОТКИ ТЕХНИЧЕСКОГО МАСЛА

САВЯК О. Л.

*Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина;
e-mail: oksana_savjak@mail.ru*

Проблема использования минеральных и синтетических масел как мощных загрязнителей окружающей среды и прогнозируемая исчерпанность разведанных залежей нефти и газа побуждает к разработке новых экологически безопасных смазочных масел на основе естественных растительных. Базовые минеральные и синтетические масла и добавки специального назначения имеют низкую скорость биологического распада и часто токсичны. Растительные масла по экологическим показателям имеют преимущества по сравнению с нефтяными маслами.

Нами для исследования взято рапсовое масло, на основе которого синтезировано ряд технических масел с высокими антифрикционными свойствами.

Для снижения ненасыщенности растительных масел проводят их химическую модификацию: димеризацию, полимеризацию, которая приводит к получению двухосновных кислот, переэтерификацию одноатомными спиртами (алкоголиз) и замещение ацильных групп сложного эфира (ацидолиз), обменные реакции между глицеролами. Отдельным направлением есть многостадийная химическая переработка растительных масел с образованием сложных эфиров, моно- и дикарбоновых кислот. Эффективным способом модификации глицеролов растительных масел есть введение в их структуру трибоактивных элементов S, P, Cl и циклического имина. Учитывая эти данные, разработана методика проведения синтеза для получения качественных смазочных материалов – сульфидирование оксиэтилированного рапсового масла. Введены разные концентрации серы для определения наиболее эффективной композиции.

Исследование противоизносных свойств созданных смазочных масел показало положительные результаты. В частности, исследование зависимости нагрузки заедания от содержания серы в рапсовом масле показало, что с увеличением содержания серы нагрузка заедания увеличивается, в особенности интенсивно при $C_s > 2-3\%$, где C_s – концентрация серы. Определена зависимость интенсивности износа стали ШХ-15 при смазывании полученными смазочными маслами от концентрации серы для двух обобщенных показателей износа: J_1 – при изменении N от 200Н к Nкр.; J_2 – при изменении от Nкр. до 3700 Н, где N-нагрузка, Nкр. – критическая нагрузка. Обобщенный показатель износа рапсового масла с увеличением концентрации серы уменьшается до $C_s = 8-10\%$ для J_1 и дальше увеличивается, а для J_2 этот показатель уменьшается до $C_s = 3-5\%$ и дальше увеличивается.

На основе проведенных исследований можно сделать следующий вывод: синтезированы качественные смазочные материалы с высокими техническими характеристиками. Полученными смазочными материалами биологического происхождения возможно заменить синтетические и минеральные смазочные масла, и этим самым улучшить экологическую ситуацию окружающей среды.

ВПЛИВ БІОРЕМІДАЦІЇ НА ЧИСЕЛЬНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ У ҐРУНТІ О. ЗМІЇНИЙ, ЗАБРУДНЕНОМУ НАФТОПРОДУКТАМИ

СОХАНЬ В. Д., БУХТІЯРОВ А. Є., ВОЛЮВАЧ О. В.

*Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Україна;
e-mail: sokhanvadim@gmail.com*

Згідно із сучасним уявленням саме мікроорганізми беруть ключову участь у процесі утворення ґрунту та певною мірою відповідальні за його властивості, здатність до самоочищення. Для різних ґрунтів характерна власна структура мікробних угруповань, яка дуже лабільна до дії зовнішніх чинників, у тому числі і різноманітних полютантів. Вивчення таких змін дозволяє краще зрозуміти їх механізм, дає інформацію про стан ґрунту та дозволяє оцінити можливі ризики. Широкий спектр метаболічних шляхів обумовлює високий біодеструктивний потенціал бактерій відносно ксенобіотиків та використовується для біоремідації забруднених ґрунтів. Ґрунти острова Зміїний мають ряд характерних властивостей, пов'язаних із дією моря та орнітогенним походженням. Необережне транспортування нафтопродуктів призвело до появи на острові осередків забруднення. Метою нашої роботи було вивчення еколого-трофічних груп мікроорганізмів забрудненого нафтопродуктами ґрунту острова Зміїний після використання процедури біоремідації.

Відбір зразків із дослідних ділянок відбувався впродовж теплого періоду року тричі: наприкінці весни, влітку та на початку осені 2013 року. Як контроль використовували ґрунт, що відбирався в умовно чистій зоні о. Зміїний без осередків нафтового забруднення. Після весняного відбору забруднена ділянка пройшла процедуру комплексної біоремідації з використанням в тому числі біопрепарату на основі бактерій роду *Pseudomonas*. Хімічний аналіз на загальний вміст органічних сполук, вміст вуглеводнів нафти та вміст смол і асфальтенів проводився гравіметричним методом. Зміну чисельності основних еколого-трофічних груп мікроорганізмів досліджували за методом Коха. Кількість амоніфікаторів визначали за числом колоній, що виростили під час інкубування на м'ясопептонному агарі, мікроорганізмів мінералізуючих неорганічні форми азоту – на крохмаль-аміачному агарі (КАА), оліготрофів – на голодному агарі. Також визначали коефіцієнт мінералізації: відношення чисельності мікроорганізмів, що виростили на КАА до амоніфікаторів, та коефіцієнт оліготрофності: відношення кількості оліготрофів до амоніфікаторів.

Хімічний аналіз показав, що в ґрунті дослідної ділянки вміст органічних сполук в 12–20 разів, смол і асфальтенів в 4–13 разів перевищує контроль. Кількість вуглеводнів нафти в 5–11 раз більше контролю та перевищує орієнтовно допустиму концентрацію (ОДК; на території України становить 0,2 г/кг ґрунту) в 1,8–2,8 раза. Чисельність досліджених груп мікроорганізмів варіюється в межах 10^6 – 10^9 КУО/г ґрунту. У контрольних зразках кількість мікроорганізмів на всіх поживних середовищах впродовж дослідженого періоду поступово зменшується. Чисельність амоніфікаторів в забрудненому ґрунті, щодо проведення біоремідації трохи менша ніж в контролі, восени значно збільшується і перевищує показники контролю. Чисельність організмів на КАА та голодному агарі після біоремідації залишається стабільною. Влітку кількість мікроорганізмів, які ростуть на КАА незначно зменшується, а оліготрофів, навпаки, збільшується. Коефіцієнт мінералізації та коефіцієнт оліготрофності постійно зменшується впродовж дослідженого періоду. В контролі ці показники стабільніші.

Отже, забрудненість ґрунту вуглеводнями нафти дослідженої ділянки острова Зміїний перевищує ОДК в декілька разів. Після проведення біоремідації чисельність досліджених груп мікроорганізмів істотно змінюється порівняно з контролем. Спостерігається значне зростання кількості амоніфікаторів,

що свідчить про початок процесів мікробної сукцесії в ґрунті та зменшення інтенсивності процесів мінералізації неорганічних форм азоту.

ДОСЛІДЖЕННЯ СТІЙКОСТІ СВІТЛОПРОЗОРОЇ ЕТИЛЕН-ТЕТРАФТОРЕТИЛЕНОВОЇ ПЛІВКИ ДО ДІЇ МІКРОСКОПІЧНИХ ГРИБІВ

¹СУББОТА А. Г., ²ГРИНБЕРГ М. Л., ¹ЧУЄНКО А. І., ³ОСТАПЮК С. Н.,
¹НАКОНЕЧНА Л. Т., ¹ПИСЬМЕННА Ю. Б.

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: labgribimv@rambler.ru;

²ДП Науково-технічний центр оцінки відповідності
в будівництві «БУДЦЕНТР», Київ;

³Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ

На сьогодні новітній матеріал – етилететрафторетилєнова (ETFE) світлопрозора плівка широко застосовується замість традиційного скла у покрівлях атріумів, фасадах і купольних спорудах із основним металевим каркасом. Функціональне призначення таких об'єктів різноманітне: виставкові та виробничі будівлі, дослідні, медичні та культурно-освітні заклади, житлові будинки, офісні та торговельно-розважальні центри, аквапарки, басейни, ботанічні сади та інші приміщення, які тісно пов'язані із життєдіяльністю людини. Для запобігання виникненню біопошкоджуючої ситуації та проблем, пов'язаних з її усуненням, всі нові будівельні матеріали обов'язково мають бути стійкими до впливу мікроскопічних грибів.

Метою нашої роботи було дослідження грибостійкості прозорої плівки ETFE, що впроваджується в конструкційному будівництві в Україні. Об'єктом досліджень була прозора плівка ETFE закордонного виробництва.

Завданням дослідження було визначити ступінь колонізації зразка упродовж 5 місяців та дослідження впливу мікроскопічних грибів на його компонентний склад за допомогою ІЧ-спектроскопії.

Фрагменти зразків ETFE штучно обробляли суспензією мікроскопічних грибів з вмістом 1×10^6 спор в 1 мл розчину мінеральних солей та витримували в ексикаторах, згідно з методом 2 ГОСТ 9.049. ІЧ-спектри реєстрували методом порушеного повного внутрішнього відбиття на приставці ATR з використанням кристала ZnSe на спектрометрі «*SENSOR – 37*».

Встановлено, що на 5-й місяць дослідження інтенсивність розвитку мікроміцетів була оцінена в 5 балів, що свідчить про відсутність у плівки стійкості до впливу мікроскопічних грибів. Серед них домінував *Aspergillus flavus* Link, віднесений до III групи патогенності згідно з СП 1.3.2322-08. Крім того, мікробіологічним методом встановлено наявність супутньої мікобіоти, якою була контамінована плівка ETFE у процесі її транспортування, а саме: *Alternaria* sp., *Aspergillus flavus*, *A. niger* Tiegh, *A. terreus* Thom, *Penicillium* sp., *Mycelia sterilia* dark, *Mycelia sterilia* white. Більшість цих видів віднесено до IV та III групи патогенності, що свідчить про їх потенційну небезпеку для здоров'я людини.

Наприкінці експерименту спостерігався інтенсивний розвиток міцелію і спорозосних структур на плівці, що впливає на її прозорість. Після очищення плівки від міцелію та огляду її під мікроскопом (при збільшенні $\times 56$) жодних ознак біодеструкції на її поверхні не виявлено. Ідентичність ІЧ-спектрів контрольних фрагментів ETFE (що не зазнавали впливу мікроміцетів) та фрагментів зразка цього матеріалу, що протягом 5 місяців перебували під впливом мікроскопічних грибів, свідчить про відсутність змін в його компонентному складі.

Таким чином, встановлено, що на поверхні зразка плівки ETFE в умовах мінерального забруднення за вологості повітря вище 90% і температури (29 ± 2 °C) можливий інтенсивний розвиток мікроскопічних грибів, що не призводить до його механічних пошкоджень та змін компонентного

складу, однак знижує оптичні властивості цього матеріалу, а також становить істотну загрозу для здоров'я людей. Слід унеможливити шкідливий вплив грибів і розробити низку особливих заходів щодо контролю стану плівкових систем.

ИНКАПСУЛЯЦИЯ В АЛЬГИНАТНЫЕ МИКРОСФЕРЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПОДХОД ДЛЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И КРАТКОСРОЧНОГО ХРАНЕНИЯ КЛЕТОК

*ТАРУСИН Д. Н., ЗАЙКОВ В. С., МУЦЕНКО В. В.,
ПЕТРЕНКО Ю. А., ПЕТРЕНКО А. Ю.*

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК), инкапсулированные в альгинатные микросферы (АМС) находят все более широкое применение в области регенеративной медицины и трансплантологии. Перспектива и необходимость терапевтического применения МСК в лечении ряда заболеваний требует простых и эффективных способов транспортировки данного биологического материала между различными профильными учреждениями.

Целью данной работы было изучить устойчивость МСК, инкапсулированных в альгинатные микросферы, к краткосрочному хранению при положительных температурах.

МСК, в виде суспензии и инкапсулированные в АМС, хранили при 4, 22 и 37 °С в герметично закрытых криопробирках, содержащих 1 мл культуральной среды. После хранения альгинатные микросферы растворяли 1%-ым раствором цитрата натрия с последующим монослойным культивированием клеток. Жизнеспособность определяли по МТТ-тесту и по способности клеток адгезировать на культуральный пластик после суточного монослойного культивирования. Метаболическую активность МСК оценивали по степени восстановления редокс-индикатора AlamarBlue (АВ).

Хранение суспензии МСК при 22 и 37 °С сопровождалось быстрым снижением жизнеспособности и степени восстановления АВ уже со вторых суток инкубации до значений 40–60%. Более длительные сроки хранения сопровождались агрегацией клеток. При тех же температурных режимах инкапсуляция МСК в АМС предотвращала агрегацию и способствовала сохранению клетками высоких показателей жизнеспособности и метаболической активности на уровне 60–85% до трех суток инкубации. В то же время хранение суспензии и инкапсулированных МСК при 4 °С приводит к значительному снижению жизнеспособности и метаболической активности к третьим суткам, что вероятно связано с непригодностью использования культуральной среды для гипотермического хранения данных клеток.

Одним из механизмов устойчивости инкапсулированных МСК к краткосрочному хранению при положительных температурах может быть снижение метаболической активности клеток в составе микросфер. Определение общего метаболического состояния одинакового количества клеток в составе АМС и в монослое показало, что инкапсуляция МСК в АМС сопровождается снижением степени восстановления АВ в 3 раза, что свидетельствует о замедлении общего метаболизма данных клеток.

СПОСОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПОЛИФЕНОЛОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ

ХОДАКОВ И. В.

ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса;

e-mail: flavan@mail.ru

Экстракты растительных тканей представляют собой сложные смеси множества веществ, среди которых преобладают флавоноиды и фенольные кислоты. Полифенолам отводят важную роль в регуляции различных функций в растениях, большое внимание уделяется их способности влиять на физиологические процессы в организме животных и человека.

Наиболее точным методом анализа состава полифенолов в растительном сырье является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), позволяющая идентифицировать исследуемые вещества по сходству времени удерживания на хроматографической колонке с чистыми аналогами (стандартами). Однако вероятность наличия в экстрактах веществ, отличных по строению от стандарта, но проявляющих сходные со стандартом свойства взаимодействовать с наполнителем колонки, вследствие чего время удерживания таких веществ и стандарта могут совпадать, является высокой. Это приводит к неправильной их идентификации. Для повышения точности идентификации дополнительно сравнивают спектральные характеристики исследуемых веществ и стандартов, для чего требуется оснащение хроматографических систем дорогостоящими модулями с фотодиодной матрицей и специальное программное обеспечение. Целью данной работы явилась разработка способа получения спектральных характеристик полифенолов без дополнительного оснащения хроматографа.

В качестве спектральных характеристик вещества предлагается использовать высоты пика этого вещества на хроматограммах при длинах волн 255, 286 и 350 нм, приведённых к высоте пика при длине волны 225 нм. Выбранные длины волн являются средними величинами для главных максимумов спектров поглощения ряда веществ, относящихся к различным группам флавоноидов. Идентификацию веществ производят путём сравнения их времени удерживания и спектральных характеристик с аналогичными характеристиками стандартов при помощи индексов сходства. Исследуемое вещество считается идентичным стандарту при степени сходства всех спектральных характеристик не менее 70%, и времени удерживания не менее 75–80%. Способ позволяет выявлять различные формы одного и того же полифенола (агликоны, гликозиды) при условии сходства их спектральных характеристик, а также определять принадлежность веществ к различным группам полифенолов на основе небольшого количества стандартов, представляющих эти группы.

В качестве апробации предложенного способа провели хроматографический анализ спиртовых экстрактов семян и листьев сои сорта Фарватер украинской селекции (выбор сорта произвольный). С использованием идентификационных характеристик стандартов генистеина и дайзеина и их гликозидных форм в семенах сои были идентифицированы агликоны, гликозиды и малонилгликозиды изофлавонов, в том числе и глицитеина. Определено общее и индивидуальное содержание изофлавонов. В листьях сои с помощью ограниченного количества стандартов, относящихся ко всем основным группам флавоноидов, идентифицированы отдельные вещества (хлорогеновая и кофейная кислоты, рутин, кверцетин, нарингин, нарингенин, апигенин, изофлавоны), определена принадлежность неидентифицированных веществ к различным группам полифенолов, а также определено общее, групповое и индивидуальное содержание полифенолов.

ЕФЕКТИВНІСТЬ КУЛЬТИВУВАННЯ
***Anabaena hassalii* (Kütz.) Wittr. НА ЗВОРОТНІЙ ВОДІ**
З УСТАНОВКИ ЗАМКНУТОГО ВОДОПОСТАЧАННЯ

ЧЕБАН Л. М., МАЛІЩУК І. В.

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Україна;
e-mail: larisa.cheban@mail.ru

Основним фактором одержання продуктивної культури мікродоростей є вдалий підбір мінерального складу живильного середовища. Найважливішими елементами мінерального живлення альгокультур є неорганічний вуглець, різні форми азоту (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-) та фосфор. Водночас, широкий діапазон адаптаційних можливостей мікродоростей дозволяє використовувати для їх культивування комплексні живильні середовища, вторинну сировину та стічні води різного походження.

Метою роботи була оцінка доцільності використання зворотної води з рибоводної установки замкнутого водопостачання (УЗВ) для культивування альгологічно чистої монокультури *Anabaena hassalii* (Kütz.) Wittr.

Культуру *A. hassalii* вирощували на стерильній зворотній воді з рибоводної установки за освітлення 2,5–4 клк, температурі 21 ± 2 °C та 16-годинному фотоперіоді. Як середовище порівняння застосовували класичне штучне середовище Фітцджеральда № 11 у модифікації Цендера і Горхема. В динаміці культивування аналізували зміну фізико-хімічних параметрів стану культурального середовища (рН, загальну мінералізацію), ростові показники культури (приріст біомаси, загальна кількість клітин) та показники продуктивності альгокультури (вміст загального протеїну, хлорофілу *a* та каротиноїдів).

Постійний контроль фізико-хімічних показників стану культурального середовища дає можливість встановити оптимальну тривалість культивування *A. hassalii*, яка становить 40 діб. Саме за такий термін вдається одержати культуру, яка активно росте, що характеризується максимальною кількістю біомаси (4–5 г/л), збільшенням загальної чисельності клітин (16 000/мл), незначною часткою мертвих клітин (близько 5%) та вмістом протеїну в сухій масі на рівні 26%. Одержану таким чином продуктивну культуру можна використовувати для подальшої переробки або продовжувати пасажувати на свіжому живильному середовищі.

У динаміці культивування *A. hassalii* також спостерігається поступове збільшення кількості хлорофілу *a* та каротиноїдів, що сягали свого максимуму в стаціонарній фазі росту культури. На 40-ву добу культивування відмічено максимальний вміст хлорофілу *a* та каротиноїдів, що становить відповідно 16,9 та 5,6 мг/г сухої маси. Така динаміка кількості пігментів пояснюється тим, що в процесі росту альгокультури відбувається збільшення числа клітин, а разом із ними і вмісту пігментних молекул. Ця тенденція спостерігається до тих пір, доки щільність культури не досягне певних критичних значень, за яких клітини починають затінити одна одну.

Отже, культивування *A. hassalii* на зворотній воді із УЗВ дозволяє одержати культуру, що активно росте і характеризується постійним приростом біомаси та високим вмістом загального протеїну і основних фотосинтезуючих пігментів. При цьому ефективність культивування на зворотній воді з УЗВ практично не відрізняється від такої в умовах використання середовища Фітцджеральда.

Застосування як живильного середовища зворотної води з рибоводної установки дасть можливість значно знизити собівартість біотехнології одержання альгомаси та дозволить звільнити скидні води рибоводних систем від біогенних елементів.

ВПЛИВ НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНУ ГЕРПЕТИЧНУ ІНФЕКЦІЮ

¹ШЕВЧУК В. А., ²РИБАЛКО С. Л., ¹ЖОЛОБАК Н. М.,
¹ЩЕРБАКОВ О. Б., ³ІВАНОВ В. К., ¹СПІВАК М. Я.

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: N.Spivak@ukr.net;

²Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
ім. Л. В. Громашевського НАМН України, Київ;

³Інститут загальної та неорганічної хімії ім. М. В. Курнакова РАН, Москва;
e-mail: van@igic.ras.ru

Герпетична інфекція належить до одного з найрозповсюдженіших захворювань людини, за якого можуть вражатись різні органи та системи організму. Лікарські препарати для лікування цієї інфекції численні (інтерферони, індуктори інтерферонів, хіміопрепарати тощо) і відрізняються за механізмом дії. Проте, незважаючи на широкий спектр офіційних антигерпетичних препаратів їх ефективність недостатньо висока, що і призводить до пошуку нових ефективніших засобів та підходів лікування герпетичної інфекції. Одним із таких підходів є використання продуктів нанотехнології, зокрема нанокристалічного діоксиду церію (НДЦ), біологічна активність якого недостатньо вивчена. Водночас його низька токсичність, виражені антиоксидантні властивості, киснева нестеріохіометрія та раніше встановлена нами антивірусна здатність на моделі рабдовирусної інфекції дозволили припустити його ефективність на моделі герпетичної інфекції.

В роботі використовували НДЦ розміром 2,5–3 нм і стабілізовані цитратом Na та вірус простого герпесу (ВПГ-2 штам ВН), який підтримували на культурі клітин нирки кроля RK-13 та моделювали герпетичну генітальну інфекцію на самцях мурчаків. В умовах *in vitro* визначали інфекційний титр вірусу, цитотоксичну дозу (СД50) НДЦ та індекс селективності (ІС). В умовах *in vivo* визначали профілактичну та лікувальну здатність НДЦ щодо герпетичної інфекції в тварин. Контрольним препаратом був віролекс (KRKA, Словенія).

Згідно з одержаними результатами індекс селективності НДЦ є більш ніж 16, що дозволяє віднести НДЦ до активних протигерпетичних препаратів. За визначення ефективності НДЦ на моделі генітального герпесу у мурчаків виявилось, що за лікувальною схемою застосування НДЦ його ефективність була майже в 2 рази вищою, ніж у контрольних тварин.

Таким чином, одержані результати з розробки нових хімічних препаратів з антивірусною здатністю на основі НДЦ із експериментальної герпетичної інфекції відкривають перспективи його використання в практиці охорони здоров'я за деяких форм герпетичної інфекції з різною локалізацією.

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ЦИСТЕЇНУ НА АКТИВНІСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ ЕКСПЛАНТІВ *Ligularia glauca* (L.) J. HOFFM. И *L. Sibirica* (Cass.)

ШЕЛИФІСТ А. Е., ДЗВІНЧУК М. Д.

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
Інститут біології, хімії та біоресурсів, Україна;
e-mail: antonina_shel@mail.ru

Внаслідок клітинної життєдіяльності в організмі утворюються вільні радикали, які є метаболічно активними сполуками, які порушують обмін речовин. У рослин для їх знешкодження сформувалася складна система антиоксидантного захисту, представлена ензиматичними (пероксидаза, поліфенолоксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза) та неензиматичними компонентами (поліфеноли, флавоноїди, вітамін Е, аскорбінова кислота, каротиноїди). Особливо актуальним є такий вплив у разі

використання культури *in vitro*. Мікроклональне розмноження сьогодні посідає одне із провідних місць серед методів, метою яких є збереження і розмноження найрідкісніших представників вищих рослин. Однак при внесенні рослин в культуру в період адаптації до умов культивування часто відбувається розвиток оксидативного стресу. Для його усунення до складу поживних середовищ вносять різноманітні антиоксиданти. З цією метою за введення рідкісних видів флори Карпат *L. glauca* та *L. sibirica* в культуру *in vitro* нами використано цистеїн.

У зв'язку з цим метою роботи було дослідити особливості функціонування за таких умов вирощування пероксидази як одного з компонентів системи антиоксидантного захисту рослин. Оскільки ефективно розмноження обох досліджуваних видів відбувається лише у разі додавання цистеїну (60 мг/л), за нормальні (за яких нівельована дія стресового фактору) прийнято показники, властиві рослинам саме за таких умов культивування. Пероксидазну активність визначали за вимірюванням кількості утворення продуктів розпаду гваяколу. Ізоензимний спектр пероксидази досліджували за допомогою нативного диск-електрофорезу в 13%-му розділяючому гелі, як електродний буфер використовували трис-гліциновий буфер з рН 8,3, візуалізацію ділянок з ензиматичною активністю здійснювали за допомогою бензидинового реагенту.

За вивчення пероксидазної активності експлантів, культивованих на середовищах, які відрізнялися за наявністю цистеїну, виявлено, що за відсутності в поживному середовищі екзогенного цистеїну активність пероксидази в експлантах *L. glauca* знижується в два рази, тоді як у *L. sibirica* залишається незмінною. Це може бути зумовлено виходом зі зв'язаного стану «прихованої форми» ензиму, що властиво видам із підвищеною стійкістю до впливу стресорних факторів.

Під час електрофоретичного дослідження ізоформ пероксидази встановлено, що в *L. sibirica* він представлений більшою кількістю компонентів. П'ять із них притаманні обом досліджуваним видам. Мажорні компоненти спектра *L. sibirica* представлено переважно швидкими формами, тоді як *L. glauca* – повільними. На особливу увагу заслуговує смуга з R_f 0,29, інтенсивність забарвлення якої зростає в обох видів за наявності в поживному середовищі цистеїну, та з R_f 0,75, яка за таких умов змінюється аналогічно з *L. sibirica* і з'являється у *L. glauca*.

На основі одержаних результатів можна стверджувати, що *L. sibirica* має більший пристосувальний потенціал щодо впливу стресорних факторів існування порівняно з *L. glauca*.

VIRUCIDAL ACTIVITY OF THE GOLD NANOPARTICLES

¹SHYDLOVSKA O., ¹ZHOLOBAK N., ¹SHCHERBAKOV A.,
²STERLIGOV V., ²LOKSHYN M., ¹SPIVAK M.

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;

²Lashkariov Institute of Semiconductor Physics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: olgashydlovska@gmail.com

The technology of nanosized objects has great potential for biological and medical researchers. Many of inorganic elements are used in nanotechnology, such as nanoparticles of noble metals (gold, silver) and alloys, metal oxides (iron oxide, cerium dioxide, titanium dioxide), etc. Among the huge biomedical application (drug delivery, diagnostic and therapy) the recent increased interest in the study of antiviral activity of nanoparticles is observed. For instance, the antiviral activity was demonstrated for gold nanoparticles (GNP) against human immunodeficiency virus (R. Kesarkar, 2012; A. A. Date, 2013) and influenza virus (M. Sametband, 2011), for cerium dioxide nanoparticles against vesicular stomatitis virus (VSV) and herpes simplex virus (N. Zholobak, 2011).

A model system GNP-VSV was studied. We used 2.5 mM concentrate of GNP. The aim of the work is investigation of the illumination effect in the system GNP-VSV. GNP-VSV system was illuminated directly by incandescent lamp (white light) or with green or red glass filters. Irradiation was carried out for 30 min

in a darkened laboratory at temperature 22-24 °C. The activity of the Vesicular stomatitis Indiana virus, Rhabdoviridae (enveloped, bullet shaped, 180 nm long and 75 nm wide) was determined by titration of serial tenfold dilutions in ST (swine testiculus) cell culture. The calculation the effect estimation were performed 24 h after the application of VSV. Value of titers was defined as the inverse value to the logarithm of the dilution of suspension of virus, which causes 50% destruction of the cells monolayer. Criterion of antiviral effectivity is the reduction of the viral titer at 1.78 lg.

When GNP were used, the VSV titer decreased by 1.0 lg. Introduction of illumination factor (white illumination) leads to additionally decrease of the virus titer by 1.0 lg. Further studies were conducted with different filters in order to determine what part of the spectrum gives the major effect. Illumination with red light or green compared with the model system GNP-VSV without illumination causes the additionally decrease of the virus titer by 1.4–1.5 lg. The total decrease of the titer in this system was 2.4–2.5 lg.

To confirm the authenticity of the results we made additional research on the conditions of experiment. It was studied the influence of temperature, because heating effect during the illumination was observed. It was registered the rise of temperature to 15 °C for white light, to 6 °C for red spectrum and to 12 °C for green spectrum illuminations. It's well known, that the maximal light absorption by the GNP takes place in the green spectral range of light because we used GNP of 20 nm in diameter with the absorption peak at 520 nm. Absorption of light heat the GNP, this phenomenon is used to photothermal therapy (PTT) of tumors and bacterial diseases. We have demonstrated the temperature effect of on the reduction in viral titer. It was found that at 36 °C virus titer decreased by 0.5 lg, at 42 °C – by 2 lg and at 60 °C – by 7.5 lg (full inhibition of virus).

In this communication we have shown significant antiviral effect of red light illumination. In conducting the experiment with the green light the effect of temperature but not irradiation was proven. In the red spectral range the GNP do not absorb radiation (sol is transparent), however the red lighting enhances the virucidal activity of GNP by unknown mechanism. This phenomenon has to be studied.

**V. БІОХІМІЯ
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ
ТВАРИН І РОСЛИН
ТА ХАРЧОВА БІОХІМІЯ**

ДОПОВІДІ**ІНУЛІН, ФРУКТОЗА ТА МАНОЗОСПЕЦИФІЧНИЙ
ЛЕКТИН ІЗ БУЛЬБ ТОПІНАМБУРА – ВЛАСТИВОСТІ
ТА КОМПЛЕКСНЕ ОДЕРЖАННЯ***АНТОНЮК В. О.*

*Інститут біології клітини НАН України, Львів;
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: antonyuk@meduniv.lviv.ua*

Порівняно недавно у бульбах топінамбура було виявлено манозоспецифічний лектин. Він є дуже високоавтарісною речовиною через його низький вміст у сировині, але ціну його очистки можна знизити при комплексному використанні сировини. Вважається, що бульби топінамбура багаті на інулін, який є його основною запасною речовиною. Під час одержання інуліну протеїнові речовини втрачаються, перш за все, через їх чутливість до високої температури та змін рН. І навпаки, у разі отримання протеїнових речовин через низьку розчинність інуліну у холодній воді його може екстрагуватися незначна кількість. Мета цієї роботи – розробка суміщеної технології одержання інуліну, фруктози та манозоспецифічного лектину з бульб топінамбура та оцінка ефективності використання цієї сировини.

Бульби топінамбура заготовляли на присадибній ділянці у Львівській області у кінці листопада, через 30–45 днів після закінчення вегетації рослини. Екстракцію цільових речовин здійснювали водою з додаванням 0,1%-ї ацетатної кислоти і 0,3%-ї тіосечовини у співвідношенні сировина – екстрагент 1: 5. Очистку лектину здійснювали іонообмінною хроматографією на КМ-сефадексі, афінною хроматографією на колонці співполімеру крохмалю з дріжджовим мананом та іонообмінною хроматографією на DEAE-toyorearl. Інулін та нейтральні олігосахариди очищали іонообмінною хроматографією на колонці катіоніту Dawex 50x2 в H⁺-формі та аніоніту Dawex 1 в OH⁻-формі. Далі інулін осаджували 2 об'ємами етанолу, а фруктозу і олігосахариди очищали з етанольного розчину.

Встановлено, що основною масою екстрактивних речовин становлять сполуки, що не осаджуються двома об'ємами етанолу. Вони становлять ≈95% від речовин холодної екстракції і ≈87% від речовин гарячої екстракції. Найбільше серед них є вуглеводів, зокрема, D-фруктози або її олігосахаридів. Вміст інуліну в бульбах топінамбура вже за місяць після закінчення вегетації є незначним і становить менше 3% від маси екстрактивних речовин або менше 0,6% від маси висушених бульб. Вміст олігосахаридів фруктози становить близько 2/3 всієї маси екстрактивних речовин, а після очистки водного екстракту іонообмінною хроматографією він становить понад 90%, звідки фруктозу можна одержати після кислотного гідролізу шляхом кристалізації з ізопропанолу або етанолу. Через труднощі одержання фруктози у кристалічному стані доцільніше згущати очищений екстракт і використовувати у вигляді фруктозо-глюкозних сиропів.

Розроблена нова методика очистки лектину топінамбура, найважливішою стадією якої є афінна хроматографія на співполімері крохмалю і дріжджового манану. Лектин витримує прогрівання при +60 °С на протязі 1 год, але за 15 хв при +72 °С спостерігалось 75% втрати активності лектину. При діалізі проти 1% розчину динатрієвої солі ЕДТА упродовж 8 год лектин не втрачав гемаглютинуючої активності, що свідчить, що іони металів (Ca²⁺ і Mg²⁺) не є необхідними для прояву його активності.

Електрофорез проведений в 20%-му поліакриламідному гелі в присутності 0,1%-го DSNa показав, що одержаний препарат є достатньо чистим, при цьому виявлено одну зону, з Мм 15 кДа. Лектин найкраще аглютинував еритроцити мурчака, дещо слабше еритроцити кролика, а еритроцити щура і людини аглютинувались лише у дуже високій концентрації. На відміну від інших манозоспецифічних лектинів, він добре взаємодіяв з фруктозою і фруктозовмісними оліго- і полісахаридами, що дає можливість припустити його участь у транспорті або накопиченні цих вуглеводів у рослині.

ВЛИЯНИЕ ПРОЛИНА НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ЭНЗИМОВ И ИНДУЦИРОВАННУЮ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

ВАЙНЕР А. А., КОЛУПАЕВ Ю. Е., ЯСТРЕБ Т. О., ШВИДЕНКО Н. В.

*Харьковский национальный аграрный университет
им. В. В. Докучаева, Украина;
e-mail: plant_biology@mail.ru*

Активные формы кислорода (АФК) и пролин относятся к важным регуляторным компонентам растительных клеток. АФК в настоящее время рассматриваются как «двойные агенты». Они или непосредственно инициируют интенсивный окислительный стресс, сопровождающийся повреждением или гибелью клеток и организма, или выполняют функции сигнальных молекул, индуцирующих физиолого-биохимические реакции, которые способствуют повышению устойчивости организма (Jaspers, Kangasjarvi, 2010). Пролин также является стрессовым метаболитом растений, выполняющим разнообразные функции, в т.ч. шаперонную и антиоксидантную (Szabados, Savoure, 2009; Rodziewicz et al., 2014). Получены сведения о способности пролина модифицировать дифференциальную экспрессию генов супероксиддисмутазы (СОД) у шалфея (Radyukina et al., 2011). Имеются и разрозненные данные как о повышении, так и снижении активности некоторых антиоксидантных энзимов у растений под влиянием пролина (Lutts, Guerrier, 1995; Ozturk, Demir, 2002; Khedr et al., 2003). Есть сведения и о прооксидантном действии пролина, связанным с его окислением пролиндегидрогеназой и прямым включением электрона и протона от пролина в дыхательную цепь митохондрий (Miller et al., 2010). В целом же информации о взаимодействии пролина с про- и антиоксидантами пока недостаточно. Практически неизученным остается функциональное взаимодействие АФК и пролина при развитии индуцированной устойчивости растений к стрессорам. В связи с этим исследовали влияние экзогенного пролина на теплоустойчивость проростков пшеницы, содержание в них пероксида водорода и активность антиоксидантных энзимов. Для оценки специфичности эффектов пролина также изучали действие оксипролина и валина на указанные показатели.

В качестве объекта исследования использовали трехдневные (на момент начала экспериментов) этиолированные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия. На растворы пролина в концентрациях 0,1, 1 или 5 мМ, оксипролина (1 мМ) или валина (1 мМ) проростки помещали за сутки до теплового закаливания. Тепловое закаливание проростков осуществляли путем их погружения в ванну водяного ультратермостата с температурой 42 °С на 1 мин. Через сутки после закаливания проростки подвергали повреждающему прогреву в течение 10 мин при температуре 46 °С.

Исследуемые аминокислоты не оказывали существенного влияния на базовую устойчивость проростков к повреждающему прогреву. В то же время обработка проростков 1 мМ растворами пролина и (в меньшей степени) оксипролина снижала положительное влияние теплового закаливания (1 мин воздействия температуры 42 °С), валин такого эффекта не проявлял. Пролин и оксипролин (но не валин) устраняли вызываемое закаливанием транзиторное увеличение содержания пероксида водорода в корнях и побегах проростков. Обработка проростков пролином и оксипролином нивелировала индуцированное закаливанием повышение активности СОД, аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы и вызывала увеличение активности каталазы. Валин не изменял активность этих энзимов. Сделано заключение о том, что снижение эффекта теплового закаливания проростков пшеницы при обработке пролином связано с его влиянием на содержание АФК, участвующих в формировании сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости. Модификация эффекта закаливания оксипролином может быть обусловлена как его антиоксидантными свойствами, так и способностью активировать накопленные эндогенного пролина в тканях растений.

ОКРЕМІ ПОКАЗНИКИ ІМУНІТЕТУ У ЛЮДЕЙ ПРИ СПОЖИВАННІ М'ЯСА КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ

ГРАБОВСЬКИЙ С. С.

*Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, Україна;
e-mail: grbss@ukr.net*

Імунна система організму зазнає впливу різноманітних чинників: екологічного стану навколишнього середовища, здорового способу життя, сфери діяльності людини, збалансованого харчування, фізичних навантажень тощо. Стреси різного характеру, пригнічений стан організму, застосування деяких лікарських засобів є руйнівними для імунної системи. Споживання неякісної їжі, алкоголю, неправильний режим харчування, застосування ліків призводить до зміни складу симбіотичної мікрофлори травного тракту та зниження резистентності організму. Слід пам'ятати, що м'ясо-молочна продукція, отримана від тварин за стресового стану, якого тварина зазнає при транспортуванні чи перед забоєм, може бути непридатною для споживання. Недостатньо уваги приділяється саме впливу таких продуктів харчування на імунітет організму людини.

Метою нашої роботи було вивчити особливості впливу споживання м'яса курчат-бройлерів із урахуванням передзабійного стану тварин на деякі показники клітинного імунітету людей. Для дослідження було сформовано дві групи (по п'ять чоловік у кожній), аналогів за віком та масою тіла. Дослід тривав п'ять днів. Чоловіки споживали м'ясо курчат-бройлерів одномісячного віку з масою тіла 1,8–2,2 кг двічі: на початку та у кінці досліду. Для гематологічних досліджень у пацієнтів брали кров до та після вживання м'яса. У тканинах курчат-бройлерів визначали вміст поліамінів (путресцину, сперміну та спермідину).

У попередніх дослідженнях (модельний дослід) відмічено вплив передзабійного стану на фагоцитарний індекс та рівень кортизолу у плазмі крові щурів і курчат-бройлерів. У крові тварин, які протягом п'яти днів перед забоєм додатково з кормом отримували імуномодулятори та антистресори, вірогідно підвищився фагоцитарний індекс на 43% ($P < 0,01$) та зменшилась концентрація кортизолу на 57% ($P < 0,05$). Під час споживання м'яса курчат-бройлерів, які перед забоєм як антистресори та імуномодулятори отримували екстракт селезінки, у крові людей підвищився індекс стимуляції нейтрофілів (+0,82). У крові людей, які споживали м'ясо тварин за умов передзабійного стресу та без додавання екстракту селезінки, індекс стимуляції нейтрофілів знизився (-2,21).

Встановлено збільшення вмісту поліамінів у тканинах курчат-бройлерів, яким додатково до основного раціону додавали екстракт селезінки. Загальна кількість поліамінів у грудному м'язі була більшою на 45% ($P \leq 0,05$) порівняно з контролем. Правдоподібно, що поліаміни можуть впливати на показники імунітету у людей, що узгоджується з дослідженнями багатьох авторів.

Таким чином біологічно активні речовини природного походження можуть нівелювати передзабійний стрес у тварин і поліпшувати якість їх м'яса. Споживання такого м'яса підвищує індекс стимуляції нейтрофілів у крові людей та резистентність організму.

ТКАНИННА СПЕЦИФІЧНІСТЬ АДАПТИВНОЇ ВІДПОВІДІ НА ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У ГУСЕЙ

*ДАНЧЕНКО О. О., ЗДОРОВЦЕВА Л. М., ПАЩЕНКО Ю. П.,
ЯКОВІЙЧУК О. В., РУБАН Г. В.*

*Мелітопольський державний педагогічний університет
імені Богдана Хмельницького, Україна;
e-mail: danchenko.ea@mail.ru*

Відомо, що адаптація організму до оксидативного стресу відбувається адекватно стану його антиоксидантної системи. Метою досліджень було з'ясування особливостей функціонування системи антиоксидантного захисту в тканинах гусей в умовах гіпо- і гіпероксії під час переходу від ембріонального до постнатального розвитку.

У досліді використано 93 ембріони і 26 гусенят. Вміст ліпідів, ТБК-активних продуктів (ТБКАП), вітаміну Е, А і β -каротину та супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ) і глутатіопероксидази (ГПО) активність визначали в тканинах мозку, печінки, серця, шлунку і скелетних м'язів 15-, 22-, 28-добових ембріонів та 1-, 7- і 14-добових гусенят. Антиоксидантну активність (АОА) тканин оцінювали за допомогою коефіцієнта антиоксидантної активності (КАОА). Отримані результати статистично опрацьовано.

За результатами факторного аналізу в тканинах печінки гусей вплив комплексу показників (КП) про-/антиоксидантної рівноваги на АОА спадає в ряду: «КАТ – ГПО – вітамін А – ТБКАП – вітамін Е – СОД – ліпіди – β -каротин». Перші п'ять з них на 92,7% ($P \leq 0,01$) визначають КАОА. Вплив антиоксидантних ензимів у печінці перевищує вплив низькомолекулярних антиоксидантів у 2,6 рази. Найслабший вплив дослідженого КП на АОА встановлено в тканинах мозку. Причому, перші 5 з них (КАТ, ТБКАП, ліпіди, β -каротин і ГПО) на 99,7 % ($P \leq 0,05$) визначають КАОА. Вплив антиоксидантних ензимів у 21,1 рази перевищує вплив досліджених низькомолекулярних антиоксидантів. Саме в мозку доведено найменший вплив вітаміну Е на АОА. Найвищий спільний вплив КП на КАОА спостерігався в тканинах серця (в 5,5 рази сильніший, ніж для мозку). Перші п'ять з них (вітамін Е, β -каротин, ліпіди, ГПО і КАТ) – на 80,2% ($P \leq 0,01$) визначають КАОА. Вплив низькомолекулярних антиоксидантів у 1,7 рази вищий за вплив антиоксидантних ензимів. Для тканин серця підтверджується статус вітаміну Е як головного тканинного антиоксиданту. Тканини шлунку за рівнем спільного впливу КП на КАОА посідають друге після тканин серця місце. Перші 5 показників (вітамін А, вітамін Е, ТБКАП, β -каротин, ліпіди) на 98,6% ($P \leq 0,05$) визначають АОА цих тканин. Вплив низькомолекулярних антиоксидантів на АОА шлунку в 47,4 рази вищий, ніж вплив антиоксидантних ензимів. Тканини скелетних м'язів за рівнем спільного впливу на КАОА комплексу досліджених показників несуттєво поступаються шлунку і посідають третє (після серця і шлунку) місце. До найбільш впливової на КАОА п'ятірки показників відносяться вітамін А, ТБКАП, СОД, КАТ і вітамін Е. Їхній вплив на КАОА скелетних м'язів у сукупності складає 88,7% ($P \leq 0,05$). АОА цих тканин у рівній мірі визначається активністю антиоксидантних ензимів і низькомолекулярних антиоксидантів.

Отже, тканинна специфічність адаптивної відповіді на оксидативний стрес у гусей проявляється в достовірно відмінному сумарному впливі дослідженого комплексу показників на АОА тканин. Цей вплив послаблюється в ряду: *серце – шлунок – скелетні м'язи – печінка – мозок*. Вплив антиоксидантних ензимів спадає, а низькомолекулярних антиоксидантів посилюється в ряду: *мозок – печінка – скелетні м'язи – серце – шлунок*.

УЧАСТИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА В РАЗВИТИИ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ПРОГРЕВА

КАРПЕЦ Ю. В., КОЛУПАЕВ Ю. Е., ОБОЗНЫЙ А. И.

*Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева, Украина;
e-mail: plant_biology@mail.ru*

Пероксид водорода и монооксид азота (NO) относятся к сигнальным посредникам, задействованным во многих функциях растительных клеток, в т.ч. в формировании ответных реакций на действие стрессоров. Имеются сведения об изменениях содержания пероксида водорода и NO при действии на растения высоких температур (Kolupaev et al., 2008; Song et al., 2013). Однако мало исследована связь между оксидом азота и активными формами кислорода (АФК) как сигнальными посредниками при действии гипертермии. В то же время получены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что АФК принимают участие в реализации физиологических эффектов NO и наоборот (Wilson et al., 2008). В связи с изложенным целью работы было изучение возможного функционального взаимодействия АФК и оксида азота при индуцировании теплоустойчивости проростков пшеницы кратковременным воздействием высокой температуры.

Объектом исследования служили этилированные проростки мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия, выращенные на очищенной водопроводной воде при температуре 22 °С. Корни интактных трехсуточных проростков соответствующих вариантов опыта в течение 24 ч выдерживали в растворах скавенджера оксида азота 2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide (РТЮ – 100 мкМ), ингибитора NO-синтазы N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME – 2 мМ), антиоксидантов ионола (бутилгидрокситолуол – 50 мкМ) или диметилтиомочевины (ДМТМ – 150 мкМ). Контрольные проростки в это время продолжали инкубировать на воде. После обработки исследуемыми соединениями, проростки подвергали 1-минутному закаливающему прогреву при температуре 42 °С в водяном ультратермостате. Через сутки после закаливания определяли теплоустойчивость проростков, подвергая их повреждающему прогреву в водяном ультратермостате при температуре 46 °С в течение 10 мин.

Через 5 мин после закаливающего прогрева проростков наблюдалось усиление генерации супероксидного анион-радикала корнями, а через 10–15 мин происходило увеличение содержания пероксида водорода в тканях, этот эффект сохранялся в течение 30 мин. Увеличение содержания оксида азота в корнях наблюдалось через 15 мин после закаливающего прогрева, эффект проявлялся на протяжении 2 ч. Скавенджер оксида азота РТЮ и ингибитор NO-синтазы L-NAME снимали увеличение содержания пероксида водорода в корнях проростков пшеницы, наблюдавшееся после закаливающего прогрева. С другой стороны, антиоксиданты ионол и ДМТМ угнетали вызываемое закаливанием увеличение содержания оксида азота в корнях. Эффект закаливания практически в одинаковой степени нивелировался и антагонистами NO (РТЮ и L-NAME), и антиоксидантами (ионолом и ДМТМ). Полученные результаты свидетельствуют о тесном функциональном взаимодействии активных форм кислорода и азота при формировании индуцированной теплоустойчивости проростков пшеницы. При этом происходящее после закаливающего прогрева транзитное увеличение содержания в тканях NO и АФК является взаимозависимым. Возможно, что тепловое воздействие активизирует практически одновременно как системы, генерирующие АФК, так и синтезирующие оксида азота. Также не исключено, что процессы активации этих систем и (или) взаимодействия NO и АФК опосредованы флуктуациями концентрации других сигнальных посредников.

СИГНАЛЬНЫЕ ПОСРЕДНИКИ ПРИ ИНДУЦИРОВАНИИ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК БРАССИНОСТЕРОИДАМИ

¹КОЛУПАЕВ Ю. Е., ¹ВАЙНЕР А. А., ²ХРИПАЧ В. А.

¹Харьковский национальный аграрный университет
им. В. В. Докучаева, Украина;
e-mail: plant_biology@mail.ru;

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск

Экзогенные брассиностероиды (БС) повышают устойчивость растений ко многим абиотическим и биотическим стресс-факторам (Khrpach et al., 2000; Bajguz, 2012), в т.ч. к тепловому шоку. Однако роль сигнальных посредников, участвующих в реализации физиологических (в т.ч. стресс-протекторных) эффектов БС, остается недостаточно изученной. Показано участие NO, активных форм кислорода (АФК) и MAP-киназного каскада в индуцировании БС реакций, необходимых для развития устойчивости растений к холоду и параквату (Xia et al., 2009). Одним из важных источников сигнальных АФК в клетках растений и животных является NADPH-оксидаза (КФ 1.6.3.1). Установлено усиление экспрессии гена *RBOH* и активности NADPH-оксидазы у растений под действием экзогенных БС (Nie et al., 2013). Известно, что активность NADPH-оксидазы регулируется с помощью кальцийзависимых механизмов (Ogasawara et al., 2008). Показано усиление поступления ионов Ca^{2+} в цитозоль растительных клеток через кальциевые каналы плазмалеммы под влиянием БС (Ильковец и др., 1999). В то же время связь между АФК и кальцием как сигнальными посредниками при индуцировании БС устойчивости растений к стрессорам изучена пока слабо. В связи с изложенным, цель работы – исследование участия ионов кальция и энзиматических систем, генерирующих и обезвреживающих АФК, в развитии теплоустойчивости клеток колеоптилей пшеницы под действием БС. В работе использовали 24-эпибрассинолид (24-ЭБЛ) и 24-эпикастастерон (24-ЭКС), относящиеся соответственно к 7-оксалактонам и к 6-оксотипу брассиностероидов и отличающиеся по биологической активности (Bajguz, 2012).

В качестве объекта исследования использовали отрезки колеоптилей пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия, которые отделяли от 4-суточных этиолированных проростков. Колеоптилю инкубировали на простерилизованном 2%-ом растворе сахарозы с добавлением пенициллина (Na-соль, 100000 ед.) (контроль). Исследуемые БС в концентрации 10 нМ вносили в среду инкубации колеоптилей. В отдельных вариантах опыта в среду добавляли ингибитор NADPH-оксидазы имидазол (1 мкМ), хелатор внеклеточного кальция ЭГТА (50 мкМ) или антагонист образования циклической аденозин-5'-дифосфатрибозы (сADPR) никотинамид (1 мМ) либо комбинации этих соединений с БС. После суточной инкубации колеоптилей на растворах исследуемых соединений отрезки подвергали повреждающему прогреву в водяном ультратермостате при 43 °С в течение 10 мин.

Обработка колеоптилей 10 нМ растворами 24-ЭБЛ и 24-ЭКС вызывала транзиторное усиление генерации ими супероксидного анион-радикала (с максимумом через 2–5 ч после начала обработки) и последующее увеличение активности супероксиддисмутазы, каталазы и повышение теплоустойчивости, определяемой по выживанию отрезков через 2 сут после прогрева. Предобработка колеоптилей ингибитором NADPH-оксидазы имидазолом снимала эффект усиления продукции супероксидного анион-радикала, препятствовала повышению активности антиоксидантных энзимов и развитию теплоустойчивости клеток. Изученные эффекты БС также угнетались при предварительной обработке отрезков колеоптилей хелатором внеклеточного кальция ЭГТА и никотинамидом, который препятствует поступлению кальция в цитозоль из внутриклеточных компартментов (вакуолей), блокируя кальциевые каналы, регулируемые сADPR. Таким образом, есть основания полагать, что сигнал БС, вызывающий активацию NADPH-оксидазы, последующее повышение активности антиоксидантных энзимов и развитие теплоустойчивости колеоптилей, критически зависит от поступления кальция в цитозоль как из межклеточного пространства, так и из внутриклеточных компартментов.

**THE INFLUENCE OF «ASPARKAM» ON CESIUM
AND POTASSIUM IN RAT LIVER BY THE ACTION
OF CESIUM CHLORIDE**

MELNYKOVA N. M., YERMISHEV O. V.

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: oleg.ermishev@i.ua*

It is known that heavy metals, including cesium, are characterized by high toxicity and biochemical activity that allows including them to ecocide and biocide xenobiotics. The toxic effect of cesium on the human body and animals is accompanied by steady hypokalemia of cells, violation of conductivity of tissues, water - salt metabolism and biochemical reactions. Studying the question of the influence of potassium salt's on accumulation of cesium allows setting the mechanisms of pathological conditions in the body and will prevent the supply of it to the animals and thereby reduce the level of contamination of agricultural products.

The purpose of the research was to study the content of cesium and potassium in the rats liver for the actions of cesium chloride, as well as the impact of potassium-containing drug «Asparkam» on these indicators.

For research it was used young males of white laboratory rats, whose weight was 180-200 g. Rats were poisoned by daily oral introduction of cesium chloride in a dose of 7.5 mg/100 g body weight of the animal, which is 1/20 Ld50 and introduction of potassium-containing drug «Asparkam» in a dose of 98 mg/100 g body weight of the animal. The corresponding amount of saline was introduced orally to the intact animals. The experiment was carried out according to the scheme: group 1 – control group of rats; group 2 – rats, which were poisoned by cesium chloride; 3 – rats, which were poisoned by cesium chloride with simultaneous oral introduction of potassium-containing drug «Asparkam». There were 8 animals in each group. The experiment lasted 24 days. The concentration of cesium and potassium in the liver were determined by Atomic emission spectroscopy with inductive-linked plasma on the device Optima 2100 DV.

According to the results it is observed accumulation of cesium in the liver, so on 24th day of study its number increased 30 times with 5.35 ± 0.93 mg/kg in the liver of rats in the control group to 157.90 ± 3.81 mg/kg in rats, which were poisoned by cesium chloride. When it was used simultaneous oral introduction of potassium-containing drug «Asparkam» contents of cesium in the liver decreases and becomes 86.58 ± 3.83 mg/kg that 1.82 times smaller than in the liver of animals, who did not use the «Asparkam». The results of researches showed that when there is influence of cesium chloride the level of potassium in the liver is reduced to 13.7%, in comparing to the rats of control group. The researching of content of potassium for rats, which were poisoned by cesium chloride with simultaneous action of «Asparkam», content of potassium in a liver increased to 9.4%, in comparing to maintenance of it in the group of rats that did not use preparation.

According to the researching results of the impact of the drug «Asparkam» on the content of cesium and potassium in the rat's liver which were poisoned by cesium indicates the correction of the content of these elements, that can be used to reduce the accumulation of cesium, as well as to prevent the occurrence of hypokalemia in the body of animals.

**ТРАНСФОРМАЦІЯ ГЛІКОЛІПІДІВ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ
МЕМБРАН ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ ЗА ІНОКУЛЯЦІЄЮ
АЛЬБОБАКТЕРИНОМ ТА ІНФІКУВАННЯ
*Pseudocercospora herpotrichoides***

ПАНЮТА О. О., БЕЛАВА В. Н., ФОМАЇДИ С. В.,
ОКАНЕНКО О. А., ТАРАН Н. Ю.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: panyuta@ukr.net

Стійкість рослинного організму до дії абіотичних та біотичних чинників значною мірою залежить від його здатності зберігати і відновлювати структуру мембран, яка порушується у стані стресу. Важливою ланкою збереження фізіологічної активності фотосинтетичних мембран за дії стресорів є зміни вмісту гліколіпідів – моногалактозилдіацилгліцеролу (МГДГ), дигалактозилдіацилгліцеролу (ДГДГ) та сульфохіновазилдіацилгліцеролу (СХДГ) зокрема. У сучасній системі захисту рослин від хвороб прагнуть замінити фунгіциди імунизаторами, серед яких важливе значення мають мікробні препарати. Крім того, загальновідомо, що у разі відсутності дефіциту фосфору, стійкість рослин до багатьох хвороб підвищується.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідити вплив передпосівної обробки насіння фосфатмобілізуючим мікробним препаратом Альобактерин (*Achromobacter album* 1122) на трансформацію гліколіпідів фотосинтетичних мембран проростків озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) різних сортів (сприйнятливого – Миронівська 808 та відносно резистентного – Roazon) за інфікування збудником церкоспорельозу *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton.

Ліпіди екстрагували методом Зілла і Хармона в модифікації Яковенко та Міхно і розділяли методом тонкошарової хроматографії на силікагелі в системі розчинників ацетон : толуол : вода (91 : 35 : 7).

Внаслідок проведених досліджень виявили, що за інфікування вміст гліколіпідів у проростках обох сортів порівняно з контролем зменшується. Але реакції проростків пшениці різних за сприйнятливістю до *P. herpotrichoides* сортів на атаку фітопатогену та на обробку фосфатмобілізуючими мікроорганізмами на рівні компонентів ліпідного комплексу відрізнялись. У проростків сорту Roazon відмічене стійке зниження вмісту галактоліпідів за дії досліджуваних мікроорганізмів, що характеризує стан рослинного організму як стресовий і дозволяє припустити, що руйнація МГДГ і ДГДГ є наслідком вилучення галактози для укріплення стінок рослинної клітини. Крім того, зниження рівня МГДГ за впливу чужинного геному пояснюється можливим включенням оксиліпінових сигнальних шляхів. Водночас значні коливання вмісту галактоліпідів у проростків сорту Миронівська 808, ймовірно, характеризують нестабільний стан захисних систем проростків сприйнятливого сорту за дії елісаторів досліджуваних мікроорганізмів. Зниження вмісту СХДГ у проростків сорту Roazon, на нашу думку, пов'язане з інтенсивним використанням сірки для синтезу захисних цистеїнвмісних протеїнів – дефензинів і тіонінів. Зміни вмісту СХДГ у проростків сорту Миронівська 808 були абсолютно ідентичні для варіантів з альобактерином і альобактерин + інфекція, що, ймовірно, обумовлене тим, що у разі передпосівної обробки насіння фосфатмобілізуючим мікробним препаратом із послідуною інокуляцією *P. herpotrichoides*, стресовий стан не посилюється і додаткової руйнації СХДГ не відбувається.

Отже, трансформація гліколіпідів фотосинтетичних мембран проростків озимої пшениці досліджуваних сортів у варіантах з попередньою обробкою фосфатмобілізуючим мікробним препаратом Альобактерин мала подібний характер, проте відрізнялася для досліджуваних сортів за абсолютними значеннями або в часі.

ЛІПІДИ КРОВІ НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ ХВОРИХ НА ГОСТРІ РОЗЛАДИ ТРАВЛЕННЯ ТА ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЕНТЕРОСОРБЕНТІВ

ТОМЧУК В. А., ГРИЩЕНКО В. А.

*Національний університет біоресурсів
і природокористування України, Київ;
e-mail: tomchuk_viktor@ukr.net*

За розвитку гострих розладів травлення у шлунково-кишковому тракті спостерігаються глибокі морфофункціональні зміни. На даний час практично відсутні дослідження, які б повною мірою характеризували участь ліпідів та їх похідних у патогенезі цих захворювань. Ліпіди відіграють важливу структурну, енергетичну й регуляторну роль у клітині та в усьому організмі. Враховуючи поліфункціональну роль цих сполук у процесах травлення, можна припустити, що комплексне дослідження проблеми матиме важливе фундаментальне значення під час лікування тварин зі шлунково-кишковою патологією.

Аналіз ліпідів крові показав відмінності співвідношення їх фракцій у здорових і хворих тварин. У сироватці крові, еритроцитах і лейкоцитах хворих телят знижувався вміст фосфоліпідів. Такі зміни можна пояснити лише зменшенням кількості формених елементів та ліпопротеїдів крові, оскільки вміст фосфоліпідів у мембранних структурах досить стабільний. Загалом, кількість фосфоліпідів у цільній крові хворих телят зменшилась у 1,13 раза порівняно з цільною кров'ю клінічно здорових телят. Ентеросорбенти відновлювали вміст фосфоліпідів крові хворих телят до рівня тварин контрольної групи.

У цільній крові хворих телят виявлено у 1,47 раза більший вміст триацилгліцеролів, причому цей показник зростав за рахунок триацилгліцеролів еритроцитів та лейкоцитів, тоді як у сироватці крові їх вміст зменшувався. Отже, у хворих телят посилюється накопичення резервних ліпідів у формених елементах крові, а надходження триацилгліцеролів у кров у складі ліпопротеїдів зменшується, що узгоджується з більшим вмістом триацилгліцеролів у печінці хворих телят.

У фосфоліпідах цільної крові хворих телят рівень лізофосфатидилхоліну був вищий і становив 6,9 проти 3,1% у клінічно здорових, кількість фосфатидилсерину – 6,1 проти 10,0%. Вміст лізофосфатидилетаноламіну у хворих телят становив 2,8 проти 6,13% у крові клінічно здорових. Рівень фракцій фосфатидилінозитолу у хворих телят був удвічі менший, а фосфатидилхоліну – більший. Зафіксовано удвічі менший рівень фракції фосфатидилетаноламіну та нижчі показники лізофосфатидної і фосфатидної кислоти. Подібна закономірність спостерігалася й для ліпідів, екстрагованих із еритроцитів хворих телят, у яких виявлено збільшення вмісту лізофосфатидилхоліну вдвічі, сфінгомеліну – в 1,4 раза, фосфатидилхоліну – в 1,6 раза і фосфатидилетаноламіну – в 1,4 раза та зменшення вмісту лізофосфатидилетаноламіну в 1,2 раза, лізофосфатидної кислоти – в 2,4 раза і фосфатидної кислоти – в 3,3 раза. У ліпідах лейкоцитів хворих телят рівень фосфатидилхоліну та лізофосфатидилхоліну підвищувався в 1,2 і 2,5 раза, а вміст фосфатидилсерину та лізофосфатидилетаноламіну зменшувався в 1,6 та 1,8 раза.

Таким чином, після лікування хворих на гострі розлади травлення новонароджених телят ентеросорбентом чи полісорбом стабілізується ліпідний склад крові та її компонентів. Досліджувані ентеросорбенти не лише сорбують у кишечнику токсичні речовини, а й стимулюють травлення загалом і покращують засвоєння ліпідів корму.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ПРОТЕЇНОВОГО ОБМІНУ ТА СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ У ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ ПРИ ПРОРОСТАННІ ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДУ ХАРНЕС ТА ПІДВИЩЕНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ

ФІЛОНІК І. О.

*НДІ біології, Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: filonikirina@rambler.ru*

Зростання комплексного забруднення довкілля та широке використання гербіцидів для обробки ґрунтів і посівів сільськогосподарських рослин негативно впливають на їх ріст та розвиток, особливо в умовах потепління клімату. Це потребує детальних досліджень впливу антропогенних та кліматичних факторів на фізіолого-біохімічні процеси в рослинному організмі на ранніх етапах онтогенезу рослин. Тому вивчення дії гербіцидів та підвищеної температури на показники протеїнового обміну та системи протеолізу в зерні кукурудзи у разі її проростання є актуальним і необхідним як для виявлення механізму їх дії, так і для зниження їх негативного впливу на рослини.

Досліджували вплив ґрунтового гербіциду харнес (90%-го ацетохлору) у діапазоні концентрацій 1–10 мг/л, який використовують під посіви зернових і в польових умовах, на розвиток кукурудзи середньораннього гібриду Оржиця 237 МВ, а також показники протеїнового обміну, системи протеолізу, вмісту вільних амінокислот у зерні на ранніх етапах проростання насіння (6–12 доби) та в умовах підвищення температури (+42 °С, 5 год, 9 год) у модельних експериментах. Досліди проводили у трьохкратній біологічній повторності, експериментальні дані були оброблені статистично за методами (Доспехов, 1985) та за стандартними комп'ютерними програмами, похибка виборок не перевищувала 5% від середніх даних.

Знайдено, що схожість насіння кукурудзи на гербіцидному фоні знизилась на 15%, а при комплексній дії більш високих доз гербіциду та підвищеної температури – до 20%. Виявлено негативну дію харнесу на ріст рослин – зниження росту коренів та пагонів від 7 до 20%, більш суттєве – за дії дози 10 мг/л. За комплексного впливу гербіциду та підвищеної температури виявлено більш суттєве пригнічення росту проростків – від 11 до 28% та синергізм їх сумісної дії. Визначено, що якщо на ранніх етапах (7 доба) вміст водорозчинних протеїнів знижувався до 9% у зерні кукурудзи при проростанні на гербіцидному фоні, то у подальшому їх вміст підвищувався (на 8%), вірогідно, за рахунок активації протеїнового синтезу. Активність нейтральних протеїназ при цьому в зерні на 6-у добу знижувалась на 10–13%, а на подальших етапах (7–12 доби) спостерігалось підвищення їх активності у 1,2–3,5 раза, більш суттєве – на ранніх етапах. Активність інгібіторів трипсину та хімотрипсину в зерні кукурудзи за гербіцидного впливу та при комплексній дії двох факторів на всіх етапах у більшості своїй знижувалась в 1,3–3 раза, що свідчило про значне зменшення захисного потенціалу рослин. Знайдено, що сумарний вміст вільних амінокислот, рівень яких є дуже показовим у протеїновому метаболізмі в стресових умовах, зростав у зерні та коренях проростків кукурудзи за дії харнесу на 6–7%, а при комплексній дії двох факторів – від 9 до 26%, у більшій мірі – на ранніх етапах (6, 7 доби). За комплексної дії гербіциду та температури виявлено також зростання вмісту водорозчинних протеїнів у зерні кукурудзи до 20% на ранніх етапах (6 доба), що могло свідчити про затримку їх розщеплення, але зниження їх вмісту (від 7 до 11%) на більш пізніх етапах проростання. При цьому активність нейтральних протеїназ зростала у 1,4–5 рази у процесі проростання зерна за дії двох факторів, спостерігався антагонізм або адитивність їх сумісного впливу.

Виявлено, що затримка протеолізу водорозчинних протеїнів за дії харнесу та посилення інтенсивності розщеплення протеїнів в зерні гібриду кукурудзи узгоджуються із підвищенням рівня вільних амінокислот у проростках кукурудзи і є одним із механізмів регуляції адаптивних процесів у рослинному організмі до дії гербіцидів та змін клімату.

СТЕНДОВІ ПОВІДОМЛЕННЯ

OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT DEFENSES IN THE BLOOD OF WELL-TRAINED HOLSTEIN HORSES AFTER MODERATE EXERCISE

¹ANDRIICHUK A. V., ²TKACHENKO H. M., ²KURHALUK N. M., ¹TKACHOVA I. V.

¹*Institute of Animal Breeding, National Academy of Agricultural
Sciences of Ukraine, Kharkiv;*

e-mail: anastasia.pohlyad@gmail.com;

²*Institute of Biology and Environmental Protection,
Pomeranian University, Słupsk, Poland;*

e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

The knowledge of mechanisms of oxidative stress and antioxidant defense response in the sport horses can allow planning an appropriate and high-grade training to obtain better performance and to preserve horse welfare. The purpose of the present study was to investigate the effect of regular moderate exercise on oxidative stress biomarkers and antioxidant enzymes activity in well-trained Holstein horses.

Seventeen Holstein horses were involved in regular training of equestrian show jumping. It was proposed common to all horses exercise of average intensity: walk (5 min), trot (10 min), walk (10 min), trot (10 min), walk (5 min), canter (10 min), walk (10 min). Duration of exercise session was 1 hours. Blood samples were obtained by jugular venipuncture, in the morning, 90 min after feeding while horses were in stables, and immediately after training session. The oxidative stress markers (thiobarbituric acid reactive substrates (TBARS) and carbonyl derivatives of protein oxidative destruction levels) and antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), ceruloplasmin) and total antioxidant capacity (TAC) in the blood of Holstein horses was measured. All statistical analyses were performed using STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Poland).

Our results suggest that training session caused different consequences on oxidative stress biomarkers in the blood, plasma, and erythrocytes. Training session caused decrease of TBARS level in erythrocytes by 31.6% ($P < 0.05$), while in blood and plasma no significant changes of these parameters were observed. This difference in TBARS level between resting and training periods most likely is a consequence of differing levels of oxidative stress occurring in the tissues and erythrocytes. However, increase of carbonyl derivatives level of oxidative modified protein in erythrocytes by 56% ($P < 0.05$) indicate about exercise-induced oxidative stress. The correlation analysis between markers of lipid peroxidation (plasma TBARS levels) and carbonyl derivatives contents of protein oxidative modification ($r = 0.775$; $P = 0.000$) indicate about close relationship between lipid and protein oxidation under the influence of physical activity in sport horses.

The results of present study indicate about significant increase of antioxidant enzymes activity (SOD and GR) by 55% ($P < 0.05$) and by 47% ($P < 0.05$), respectively. Elevated level of antioxidant enzymes may attenuate exercise-induced oxidative stress in the blood of Holstein horses after training session. Moreover, correlative analysis between GPx, SOD, CAT activities and oxidative stress biomarkers (plasma TBARS level, protein derivatives and plasma total antioxidant capacity level) suggest that these enzymes play a main role in the antioxidant defense in the blood of horses both at the resting period and after training session. A correlation between the oxidative stress biomarkers and antioxidant defenses in the blood of horses after training session was observed, which may indicate about protective response of CAT ($r = -0.604$; $P = 0.010$) and ceruloplasmin activity ($r = -0.719$; $P = 0.001$) against exercise-induced oxidative stress in Holstein horses.

In the present study the decrease of oxidative stress biomarkers in the erythrocytes suspension in horses after training session could be attributed as adaptation to exercise, which correlated with activation the antioxidant defense. Regular training session may cause to adaptive responses, and eventually leads to improvements in sports performance. It also can induce physiological effects most likely by increase the antioxidant homeostasis and ability to adaptation.

ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ТРЕПАНГ ИСКУССТВЕННОГО РАЗВЕДЕНИЯ КАК СЫРЬЕ ДЛЯ ПИЩЕВОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

АЮШИН Н. Б., КИМ Г. А., СЛУЦКАЯ Т. Н.

*Тихоокеанский научно-исследовательский
рыбохозяйственный центр, Владивосток, Россия;
e-mail: taidzen@yandex.ru*

Среди многочисленных морских животных, населяющих моря Дальнего Востока, особое внимание привлекает дальневосточный трепанг (*Stichopus japonicus*). Эта голотурия содержит богатый набор биологически активных химических соединений, которые действуют раздельно или в комплексе, обуславливая высокую фармакологическую ценность получаемых из него продуктов, за что он востребован, в частности, в традиционной восточной медицине. В 1978 г. промысел дикого трепанга был запрещен из-за быстрого оскудевания его запасов. Запрет не отменен донныне, но за это время были разработаны способы искусственного разведения и выращивания трепанга. Целью настоящей работы являлось изучение химического состава и показателей качества и безопасности трепанга, выращенного на базе ТИПРО-центра в б. Заповедной Лазовского района Приморского края и на аналогичной базе Дальневосточного рыбохозяйственного университета в бухте Северной залива Славянка (Хасанский район Приморского края).

Средняя масса особей составляла 116,2 г., средняя длина – 14,94 см. Выход мышечной ткани, которая употребляется в пищу и служит сырьем для производства фармпрепаратов, составил 60,49%. Исследования общего химического состава показали, что эта ткань значительно обводнена (порядка 92% влаги), содержит около 4% протеина, основную массу которого составляет коллаген, 0,4% липидов и более 3% минеральных веществ, среди которых преобладают железо, магний и кальций (соответственно 11,84, 1225,4 и 1274,5 мг/кг). Токсичные микроэлементы (свинец, кадмий, мышьяк и ртуть) либо не обнаружены, либо содержатся в следовых количествах. Также не были обнаружены хлорорганические пестициды, содержание патогенных микроорганизмов незначительно и составляет величину, почти в 1000 раз меньшую предельно допустимого значения.

Фармакологическая ценность трепанга обуславливается в первую очередь содержащимися в нем тритерпеновыми гликозидами, которые обладают антигрибковой, противоопухолевой, гемолитической, цитостатической, иммуномодулирующей активностями. Было показано, что содержание гликозидов в исследованных образцах составляет от 2,2 до 2,6 мг/г ткани. Полученные показатели являются достаточно высокими и определяют высокую биологическую активность исследованных образцов.

Важной характеристикой пищевого сырья, к которому относится трепанг, является аминокислотный состав его протеинов. Для мышечной массы образцов трепанга из бухты Северной и бухты Заповедной было проведено определение протеиновых (связанных) аминокислот. Было обнаружено, что незаменимые аминокислоты составляют около четверти от общей суммы аминокислот. При сравнении представленных данных заметно некоторое преобладание незаменимых аминокислот в мышечной ткани трепанга из бухты Северной; в целом же соотношения аминокислот мало различаются для трепанга из двух разных мест культивирования. Кроме того, для тех же образцов провели определение свободных аминокислот и других свободных нингидрин-положительных соединений. Было обнаружено, что их содержание в мышечной ткани трепанга из бухты Северной в 5 раз ниже, чем у трепанга из бухты Заповедной. Впрочем, в обоих случаях оно оказалось настолько малым (0,5–2,5 мг/г), что говорить об их влиянии на биологическую активность трепанга нет никакого смысла.

Таким образом, трепанг искусственного культивирования вполне пригоден для разработки фармакологических препаратов и биологически активных добавок к пище, а также пищевой продукции функционального назначения.

ВПЛИВ ЗАЛИШКОВИХ ДОЗ ГЕРБІЦИДУ ДИКВАТУ НА РОСЛИНИ ПШЕНИЦІ

БАЦМАНОВА Л. М., ГРУДІНА Н. С., МУСІЄНКО М. М., ТАРАН Н. Ю.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: l.batsmanova@gmail.com*

Дикват, паракват, норфлуразон, грамініциди є широко використовуваними гербіцидами, які порушують транспорт електронів у хлоропластах, що призводить до утворення активних форм кисню. Вплив залишкових концентрацій гербіцидів на рослину невивчений. Тому метою роботи було дослідження впливу кумулятивного ефекту низької та високої концентрації диквату на рослини пшениці.

Дослідження проведено на 7-добових проростках рослин озимої пшениці, які вирощувались методом піщаної культури. Рослини оброблялись дикватом шляхом обприскування до повного змочування у концентраціях: $1 \cdot 10^{-6}$ та $1 \cdot 10^{-3}$ М, контрольні – дистильованою водою. За 24, 48 та 96 год проводили фізіолого-біохімічні дослідження на 3-х варіантах: обробка рослин дикватом у концентраціях: $1 \cdot 10^{-3}$ М один раз (перший варіант); $1 \cdot 10^{-6}$ М двічі (другий варіант); $1 \cdot 10^{-6}$ М двічі та $1 \cdot 10^{-3}$ М втретє з інтервалами у 24 год (третій варіант). Необхідно зазначити, що концентрація $1 \cdot 10^{-3}$ М диквату є у 10–20 разів нижча за дози, що рекомендуються для використання у полі та близька до залишкових у ґрунті. Вплив гербіциду на накопичення сухої речовини в проростках визначали за масою сухої речовини 10 рослин через дві доби після останньої обробки. Інтенсивність реакцій окислювальних ушкоджень та зворотність процесів пероксидації характеризували за вмістом малонового діальдегіду (МДА), розвиток захисних процесів – за активністю супероксиддисмутазу (СОД). Трансформації складових пігментної системи у фотосинтезуючих тканинах рослин оцінювали за вмістом основних пігментів.

Аналіз отриманих результатів показав, що на 24-ту год після обробки гербіцидом найінтенсивніші окислювальні процеси розвивалися у 3-му варіанті за подвійної обробки дикватом ($1 \cdot 10^{-6}$ М) з подальшою обробкою у концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ М. У варіанті з подвійною обробкою гербіцидом у низьких концентраціях ($1 \cdot 10^{-6}$ М) окислювальні процеси розвивалися повільно: на 24-ту год були на рівні контрольних варіантів, на 48-му год – нижче контрольних (на 17%), проте на 96-ту год – вміст МДА збільшився на 54%. Активність СОД зростала на 24-ту год в усіх дослідних варіантах, на 48-му год – знижувалась до контрольних варіантів, а на 96-ту год у варіанті з подвійною обробкою у низькій концентрації ($1 \cdot 10^{-6}$ М) зменшилась на 13%. Отримані дані вказують на негативний вплив гербіциду на ростові процеси, оскільки незалежно від концентрації гербіциду зменшувалась маса сирової речовини та співвідношення маси сирової речовини до сухої. Найпершим візуальним проявом дії гербіцидів є побуріння, некротичні плями та пожовтіння листків. Проте, нами відмічений «ефект позеленіння», індукований гербіцидом, який може бути обумовлений збільшенням поглинання світла рослиною та зменшенням здатності трансформувати поглинуту енергію.

Отже, ми показали, що поєднання обробки рослин дикватом у низькій концентрації ($1 \cdot 10^{-6}$ М), з застосуванням того ж гербіциду ще раз як у низькій концентрації, так і у високій ($1 \cdot 10^{-3}$ М), підсилювало чутливість рослин пшениці до диквату. Кумулятивний ефект виявлявся у зниженні маси сирової речовини, співвідношенні сирової речовини до сухої, збільшення вмісту МДА та зниженні активності СОД. Чутливість рослин збільшувалась зі збільшенням терміну дії гербіциду.

ІМУННА ТА АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМИ СВИНЕЙ ЗА ДІЇ ГУМІНОВОЇ ДОБАВКИ ТА АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ

БУЧКО О. М., СЕНЬКІВ О. М., МАКСИМОВИЧ І. Я., ЦЕПКО Н. Л.

*Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна;
e-mail: buchko_oksana@ukr.net*

Підвищення адаптаційної здатності високопродуктивних тварин і особливо молодняку в умовах промислового вирощування за допомогою біологічно активних речовин відноситься до найбільш актуальних науково-практичних проблем. Науковцями проводиться розроблення нових ефективних вітчизняних препаратів природного походження, які б мали антиоксидантну та імуномодулюючу дію на організм тварин і не шкодили б людині. Метою нашої роботи було з'ясувати вплив біологічно активної кормової добавки гумінової природи та аскорбінової кислоти на імунну та антиоксидантну системи організму свиней під час критичних періодів онтогенезу – лактації у свиноматок і ранньої постнатальної адаптації у поросят.

Дослідження було проведено на свиноматках великої білої породи та народжених від них поросятах. По принципу аналогів було сформовано дві групи тварин: контрольна і дослідна. Тварин годували вволю, з вільним доступом до кормів і води. За 10 діб до опоросу один раз на добу свиноматкам дослідної групи до раціону додавали 1%-й розчин біологічно активної кормової добавки «Гумілід» (ТУ У 15.7-00493675-004:2009) з розрахунку 0,5 мл/кг живої маси, а також аскорбінову кислоту, 2,5 мг/кг живої маси (період згодовування добавок – 10 діб). Свиноматки контрольної групи утримувались на стандартному раціоні. У господарстві раціон свиноматок включає премікс Мопіх SS 4%. Поросята народжені від свиноматок обох груп отримували комбікорм «ПігКомбі Престарт», який використовується в цьому господарстві для тварин до досягнення ними ваги 15 кг.

Матеріалом для дослідження служила кров свиноматок, отримана з очної вени за 10 діб до та на 5 і 21 доби після опоросу. У поросят, народжених від свиноматок обох груп, кров відбирали з передньої порожнистої вени у 5- і 21-добовому віці. У цільній крові визначали імунологічні показники (фагоцитарну активність нейтрофілів, кількість циркулюючих імунних комплексів та комплементарну активність сироватки крові). У загальних гемолізатах еритроцитів визначали активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та вміст відновленого глутатіону.

Внаслідок комплексного додавання до стандартного раціону аскорбінової кислоти та кормової добавки гумінової природи вкінці поросності свиноматок, встановлено вірогідне підвищення (в межах фізіологічних норм) показників природного імунітету (фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів, комплементарної активності сироватки крові та зниження кількості циркулюючих імунних комплексів до норми) свиноматок і новонароджених поросят. Згодовування досліджуваних добавок активувало антиоксидантний захист як у свиноматок після опоросу, так і у народжених від них поросят (зростала активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах).

Біологічно активну кормову добавку «Гумілід» та аскорбінову кислоту можна розглядати як адаптогени, що мають пролонговану дію, підвищують систему антиоксидантного захисту та природну резистентність, зменшують дію стресових чинників у найбільш критичні періоди життя, а саме поросності і лактації у свиноматок та раннього постнатального онтогенезу у поросят, стимулюють адаптаційний потенціал їх організму і підтримують його в період «післядії» (до 21-ої доби після опоросу).

ВПЛИВ ПРОНИКАЮЧИХ ТА НЕПРОНИКАЮЧИХ КРІОПРОТЕКТОРІВ НА ВМІСТ ГЛІКОГЕНУ В КЛІТИНАХ КІСТКОВОГО МОЗКУ СОБАК

ВОДОП'ЯНОВА Л. А., ДЕНИСОВА О. М.

*Харківська державна зооветеринарна академія, Україна;
e-mail: vodopyanova@mail.ru*

Високий терапевтичний потенціал клітин кісткового мозку (ККМ) дає можливість використовувати їх під час лікування різних порушень кровотворення. Таким чином, клінічна потреба в кістковому мозку постійно зростає і вимагає створення резерву біоматеріалу. Процес кріоконсервування без застосування кріозахисту є дуже несприятливим для клітин, це зумовлює застосування кріопротекторів при заморожуванні.

У роботі використовували наступні кінцеві концентрації кріопротекторів ДМСО – 10, 7 і 5%, ПЕО-400 – 10, 15 і 20%, гліцерин – 10, 20 і 30%. Серед різних методів дослідження клітин кісткового мозку особливе місце займають цитохімічні, які поєднують чутливість біохімічних методів з наочністю цитологічних. Глікоген є основним джерелом енергії і грає важливу роль в життєдіяльності клітини. Рівень його виражали за допомогою середнього гістохімічного коефіцієнта (СГК). Фарбування мазків виконаних з свіжоодержаної суспензії кісткового мозку собак показало, що в клітинах еритроцитарного ряду, починаючи з пронормоцитів, глікоген цитохімічно не виявлявся. У ретикулярних, макрофагальних клітинах, а також у клітинах моноцитарного і лімфоцитарного рядів дифузне забарвлення було середньої інтенсивності. Вираженішим було забарвлення в клітинах мегакаріоцитарного ряду і елементах гранулопоезу, у останніх також відмічена залежність забарвлення від ступеня зрілості клітин. Після кріоконсервування клітин кісткового мозку собак без кріопротектора, вміст глікогену в клітинах значно знижувався. У меншій мірі цей процес виражений в недиференційованих бластах і мієлобластах.

Інкубація клітин кісткового мозку собак з розчинами кріопротекторів знижувала вміст глікогену в клітинах, при цьому, чим вище була концентрація і довше час інкубації, тим нижче СГК. Гліцерин, як кріопротектор, за всіх концентрацій був малоефективний. Показники СГК були кращими в клітинах кріоконсервованих із ДМСО і ПЕО-400. Хоча ДМСО (7%) виявився найефективнішим серед досліджуваних кріопротекторів, відмінність показників СГК у клітинах кріоконсервованих під захистом розчинів ДМСО і ПЕО-400 була незначною.

Зниження кількості запасів глікогену в клітинах кісткового мозку собак після інкубації з кріопротекторами залежить від численних чинників, таких як: гіпоксія в ізольованих клітинах, що призводить до пригнічення біологічного окислення; підвищення внутрішньої осмолярності, що веде до продукування осмолитів з глюкози та ін. Крім того, зберігання біологічних об'єктів при гіпотермічних температурах приводить до інтенсифікації обмінних процесів (1–10%). Іншими словами, низькотемпературна консервація індукуює формування додаткових компонентів метаболізму, які йдуть на відновлення клітини, що спричинює витрату енергетичного матеріалу.

Подальше вивчення вмісту енергетичних складових в елементах гемопоезу, дозволить одержати дані важливі для розуміння метаболічних особливостей кровотворення.

ЛУЖНА ФОСФАТАЗА ЯК БІОМАРКЕР СТАТУСУ ЦИНКУ ТА КУПРУМУ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, ОТРУЄНИХ КАДМІЄМ

ВОРОШИЛОВА Н. М., МЕЛЬНИКОВА Н. М.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: Voroshilovk@ukr.net*

Зміни цілісності і проникності мембран клітин за умов токсичного впливу солей кадмію сприяють виникненню дисбалансу різних ензиматичних систем у клітині, що призводить до порушення гомеостазу організму. Відомо, що лужну і кислу фосфатазу відносять до ензимів, які відіграють важливу роль у метаболізмі. До складу активного центру лужної фосфатази входять іони цинку та купруму, що робить її вразливою до отруєнь важкими металами. Тому в контексті викладеного набуває актуальності вивчення оцінки змін активності лужної фосфатази як показника забезпечення організму цинком та купрумом в умовах отруєння кадмієм.

Метою нашої роботи було вивчення активності лужної фосфатази як біомаркера статусу цинку та купруму в організмі отруєних щурів. Дослідження проводили на базі кафедри біохімії тварин, якості та безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М. Ф. Гулого на статевозрілих самцях білих лабораторних щурів із масою тіла 230–250 г, тварин було розподілено на 2 групи ($n = 10$): 1-ша група – інтактні щури; 2-га група – щури, які отримували кадмію сульфат внутрішньочеревно у дозі 0,134 мг/100 г маси тварини. Тривалість дослідження складала 14 діб. У плазмі крові визначали активність лужної фосфатази на біохімічному аналізаторі «Мікролаб – 200» (Нідерланди). Вміст купруму та цинку в крові визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС-30 (Німеччина).

Внаслідок проведених досліджень було встановлено зростання активності лужної фосфатази в крові отруєних щурів у 3 рази порівняно з інтактними тваринами. При цьому вміст цинку є вірогідно вищим у 2,3 рази, натомість вміст купруму – зменшеним в 1,7 рази відповідно. Отже, різноспрямований характер змін вмісту купруму та цинку на тлі зростання активності лужної фосфатази в крові отруєних кадмію сульфатом щурів, можливо, обумовлено, з одного боку активацією кадмієм специфічних тканинних транспортерів, з іншого – антагоністичною дією досліджуваних мікроелементів в умовах отруєння важким металом.

ПОКАЗНИКИ ВМІСТУ ЗАГАЛЬНОГО ПРОТЕЇНУ ТА СЕЧОВИНИ В КРОВІ НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ЗА РОЗЛАДІВ ТРАВЛЕННЯ

ГОЛОПУРА С. І., ЦВІЛІХОВСЬКИЙ М. І.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: golopura@ukr.net*

В організмі новонароджених телят, з моменту ініціації власних процесів газообміну, поступово удосконалюються механізми терморегуляції, детоксикації, травлення, регуляції кислотно-лужного і електролітного балансу та ін., що загалом забезпечується метаболічною перебудовою в тканинах. Метою роботи було дослідити показники вмісту загального протеїну та сечовини в сироватці крові та здійснити їх корекцію за розладів травлення в новонароджених телят шляхом застосування експериментального ліпосомального макрокапсулярного препарату на основі соєвого лецитину.

Дослідження проводились на телятах у період від їх народження до 11-добового віку. Було сформовано контрольну та дослідну групи телят, по 5 тварин у кожній. Телятам обох груп випоювали молозиво в кількості 2 л після народження, а потім по 1,5 л через кожні 4 год впродовж 1-ї доби та через кожні 6 годин – на 2-у і 3-ю доби життя. З 4-добового віку телят переводили на 3-разову годівлю. Телята дослідної групи отримували експериментальний ліпосомальний макрокапсулярний препарат

на основі соєвого лецитину в дозі 5 мл, зранку за 15 хв до годівлі їх молозивом. Вміст загального протеїну (ЗП) та сечовини у сироватці крові телят визначали за загальноприйнятими методами.

Низький вміст ЗП у сироватці крові телят ($43,8 \pm 1,5$ г/л) до першого випоювання їм молозива пояснюється відсутністю в ній протеїнів Ig-фракції, які не проникають через плаценту корови-матері в кров плода. Після випоювання молозива рівень ЗП у сироватці крові телят контрольної групи зростав, і на 3-ю добу їх життя був у 1,13 раза вірогідно вищим порівняно з початком досліду, після чого залишався відносно стабільним. Натомість, у телят дослідної групи нами було встановлено достовірне зростання цього показника вже через 6 год після народження в 1,3 раза, а на 3-ю добу життя тварин – в 1,47 раза. Це можна пояснити більш інтенсивним всмоктуванням у тонкому кишечнику новонароджених телят Ig-молозива в нативному стані за впливу ліпосомального макрокапсулярного препарату. Одночасно з процесами біосинтезу протеїнів в організмі тварин, відбувається процес їх розпаду, який значно посилюється за розвитку патологічних явищ. Одним із найбільш вагомих продуктів розпаду протеїнів є азот сечовини, вміст якої в сироватці крові новонароджених телят до випоювання їм молозива складав $4,13 \pm 0,33$ ммоль/л. Через 24 год після народження вміст сечовини в сироватці крові телят дослідної групи порівняно з контролем був вірогідно нижчий у 1,38 раза, а максимальна різниця складала 2,7 раза на 11 добу після народження тварин. Однією з можливих причин недостатнього засвоєння непротеїнового азоту в телят контрольної групи може бути низька інтенсивність реакцій трикарбонового циклу, гіпоглікемія, високий рівень амонієгенезу в тканинах та явище ацидозу. Впродовж досліду в телят контрольної групи, починаючи з 2-ї і до 11-ї діб життя, спостерігались розлади травлення, які супроводжувались діареєю, дегідратацією організму, пригніченням, зниженням апетиту, тоді як у телят дослідної групи розладів травлення не було відмічено.

Отримані нами дані вказують на мембраностабілізуючу дію ліпосомального макрокапсулярного препарату на основі соєвого лецитину, дія якого може обумовлюватися здатністю фосфоліпідів, що входять до його складу, підтримувати склад плазмолемі ентероцитів, гепатоцитів та інших клітин.

CHARACTERIZATION OF ERYTHROCYTE MEMBRANE PERMEABILITY BY OSMOTIC SHOCK: QUANTITATIVE EFFECTS OF INITIAL CREATION ON FRAGILITY AND DATA ANALYSIS

¹DENYSOVA O., ¹VODOPYANOVA L., ¹ZHEGUNOV G., ²NITSCHKE J. M.

¹Kharkov State Veterinary Academy, Ukraine;

e-mail: denisova78@mail.ru;

²University at Buffalo, The State University of New York, Buffalo, USA

Insofar as cryoprotectants must enter erythrocytes to be effective, quantification of the membrane permeability coefficient P for these molecules has long been key to the mechanistic understanding of their function. This talk describes a novel revisitation of permeability determinations by osmotic shock, in which: (i) crenation occurs essentially instantaneously upon immersion of erythrocytes in a concentrated cryoprotector solution, followed by slow membrane penetration of the cryoprotector over a specific period Δt , and (ii) swelling occurs upon subsequent removal of the erythrocytes and immersion in fresh saline. Hemolysis results if Δt was long enough for so much cryoprotector to have entered that the final osmotically equilibrated cell volume exceeds the mechanical threshold of the membrane. Data on percent hemolysis as a function of Δt ultimately yields P as a fitted parameter in a supporting theoretical model.

Classical approaches rely on a separate osmotic fragility experiment to determine the critical (threshold) volume at which 50% of erythrocytes hemolyze. However, cells that have first undergone crenation in the osmotic shock experiment would likely to be more fragile than the fresh cells used to assess fragility. Indeed, it is difficult to guess a priori the consequences of so heavily wrinkling the membrane and its supporting cellular structures. We quantify this phenomenon, and find that the initial crenation renders erythrocytes more

fragile, making the critical volume applicable to the actual osmotic shock experiment smaller than usually determined separately.

Our presentation details a new data analysis taking the increased fragility into account, yielding P smaller than classical determinations, and potentially resolving differences among different literature results. We demonstrate our procedure with reference to glycerol and DMSO permeation into bovine and equine erythrocytes at 0–37 °C. Mechanistic conclusions are suggested by comparing our results with a new critical assessment of the intrinsic permeability properties of gel-phase bilayers.

ПРОБЛЕМИ ДОСЛІДЖЕНЬ ВПЛИВУ ТОКСИКАНТА І ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

КАЛАЧНЮК Г. І., МЕЛЬНИЧУК С. Д., КАЛАЧНЮК Л. Г.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: gkalachnyuk@ukr.net*

Декларація щодо значення антиоксидантів у профілактичній медицині була підписана вченими з різних країн наприкінці минулого століття. Згідно неї антиоксидантні поживні речовини можуть мати головне значення у профілактиці таких захворювань, як серцево-судинні, черепно-судинні, певні форми раку та інші відхилення у здоров'ї людини, багато з яких є, можливо, залежними від віку. Тривалі епідеміологічні дослідження були необхідними для того, щоб зрозуміти, яким чином антиоксидантні добавки є дійсно цілющими для пацієнтів, а не тільки важливими для фармакологічної промисловості.

Вже існують чіткі докази на користь використання антиоксидантних добавок у лікуванні деяких захворювань із списку цієї декларації, в який не був внесений алкоголізм.

Мета нашої роботи полягає в тому, щоб спрямувати науковців від дослідження одного питання – яким чином антиоксидантні відхилення не тільки індукуються в печінці, а й у інших тканинах та органах за умов споживання алкоголю, до вивчення іншого – яким чином антиоксидантні та лікувальні добавки могли б допомогти хворим на алкоголізм.

Спричинене етанолом ушкодження печінки можна було пов'язувати, принаймні частково, зі змінами антиоксидантної рівноваги. Вона виникла внаслідок відкриття ліпідного антиоксиданту N-N'-дифеніл-*p*-фенілендіаміну. Це запобігало виникненню етаноліндукованого жирового переродження печінки так само, як і підвищенню генерування ліпідного пероксидного окислення. Додавання етанолу до гомогенатів печінки від клінічно здорових щурів призводило до зростання рівня пероксидного окислення ліпідів. Результати досліджень розвитку жирового гепатозу, спричиненого хронічним вживанням етанолу, дали змогу стверджувати, що у щурів, яких утримували впродовж 3-х тижнів на алкогольній дієті та споживали N-N'-дифеніл-*p*-фенілендіамін, був такий же рівень триацилгліцеролів у печінці, що і у тварин контрольної групи, які були на цукровій дієті.

Супероксидні вільні радикали (O_2^-) можуть утворюватися за допомогою моноелектронного відновлення діоксигену через різні ензиматичні та неензиматичні механізми. Окрім того, O_2^- здатен утворювати високопотенційний і агресивний прооксидантний радикал ($\cdot OH$) у реакції Габера-Увейса, каталізатором якої є ферум. У клітині для запобігання такому її ушкодженню діють ефективні механізми антиоксидантних систем.

АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІПОСОМ ПРИ РОЗВИТКУ АЛКОГОЛЬНДУКОВАНОГО ГЕПАТОСТЕАТОЗУ У ЩУРІВ

КАЛАЧНЮК М. С., МЕЛЬНИЧУК Д. О., КАЛАЧНЮК Л. Г.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: mkalachnyuk@yahoo.com*

Згідно рекомендацій щодо використання фосфоліпидовмісної комплексної біологічно активної добавки, одержаної з відходів молока (маслянки), ця добавка дозволяє на 60–90% відновити структурно-функціональний стан клітин печінки новонароджених телят з ентеропатологією аліментарного походження. При диспепсії, окрім значних змін в ентероцитах, суттєво пошкоджуються й клітини печінки, зокрема їхні мембрани, структурно-функціональні властивості яких визначаються переважно фосфоліпідами. Відновлювальна дія капсульної форми комплексної біологічно активної добавки позначається на основних ланках внутрішньоклітинного метаболізму гепатоцитів і, передусім, повернення до норми вмісту ліпідів, високомолекулярних карбонових кислот у складі фосфоліпідів, активності амінотрансфераз, лактатдегідрогенази і співвідношення її множинних молекулярних форм, концентрації лактату й пірувату, ароВ-100, включення жирних кислот і фосфоліпідів у мембранні структури пошкоджених клітин. Також відновлюється активність регуляторного ензиму циклу трикарбонових кислот – цитратсинтази; ензиму кінцевого етапу біологічного окислення – цитохром-С-оксидази; ключових ензимів орнітинового циклу – орнітинтранскарбамоїлази й аргінази, які розмежовуються мітохондріальною мембраною, що свідчить про відновлення загального стану обміну речовин в організмі, здоров'я й продуктивної якості телят. Основною метою роботи було представити для наукової дискусії матеріали літератури та результати власних досліджень щодо вивчення біологічних властивостей та клінічної ефективності ліпосом, одержаних із ліпідів молока, за їх використання як терапевтичного засобу при розвитку алкогольндукованого гепатостеатозу в щурів.

Для досягнення мети необхідно було вирішити низку важливих завдань, з яких слід виділити дослідження дії алкоголю й ліпосомальної форми комплексної біологічно активної добавки на зміни концентрації у печінці щурів – триацилгліцеролів, холестеролу, відновленого глутатіону, тіобарбітурової кислоти активних продуктів та інших сполук і активності ензимів: алкогольдегідрогенази (1.1.1.1), ацетальдегіддегідрогеназа (1.2.1.3), мікросомальної ензимної окислювальної системи, супероксиддисмутази (1.15.1.1), каталази (1.11.1.6), малікензиму (1.1.1.39), 6-фосфоглюкуронатдегідрогенази (1.1.1.44), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (1.1.1.49) та інших, а також у крові – на зміни вмісту триацилгліцеролів, холестеролу, білірубіну, глюкогенних амінокислот, амінокислот із розгалуженими карбоновими ланцюгами, ароматичних й багатьох інших амінокислот, нітрогену амонійного (NH_4^+), сечовини тощо та активності ензимів лактатдегідрогенази (1.1.1.27), аспартатамінотрансферази (2.6.1.1), аланінамінотрансферази (2.6.1.2), γ -глутамілтранспептидази (2.3.2.1) та інших при паралельному контролі за динамікою змін маси тіла тварин.

**PHYTOHORMONAL CONTENTS IN WHEAT LEAVES
AT SEEDS TREATMENT WITH WHEAT GERM AGGLUTININ
AND HAPTEN N-ACETYL-D-GLYCOSAMINE**

¹KYRYCHENKO O. V., ²VOLKOGON M. V.

¹*Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;*

²*Institute of Biology, Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine*

Phytolectins and carbohydrates play an important role in plant metabolism due to their energetic and bioinformational potential realized through the specific carbohydrate-protein interactions. Amino sugar N-acetyl-D-glycosamine (GlcNAc) together with its specific lectins like wheat germ agglutinin (WGA) are involved into the key physiological process of plant cell – transcription, translation, nucleus transportation and cell signaling. In our preceding studies we have shown that at exogenous application the biological activity of lectins had influenced changes of physiological-biochemical indices of plant growth and development resulting in productivity rise. Since the implementation of plants' genetic development programs is controlled by hormones we have assumed changes in auxin and cytokinin contents in growing wheat plants at seeds treatment WGA and GlcNAc.

Hereby, the cytokinin content in leaves of spring wheat at booting stage was about 2.1–6.4 µg/g (zeatin – 0.7–1.7 µg/g and zeatin-riboside – 1.4–4.7 µg/g, in particular). The auxin (IAA) content was 4.5–14.4 µg/g. As affected by WGA and GlcNAc plant hormones indices have risen substantially (2.5 and 2.9-fold, correspondingly, as compared to control seeds treated with water). At this the level of zeatin and zeatin-riboside had risen 2.4 and 3.4 times as affected by WGA while the IAA content had only doubled. Seeds treatment with GlcNAc had resulted in substantial increase of IAA contents (3.2-fold) while the increase extent of cytokinin's free and bound forms were only in 2.0–2.5-fold, correspondingly.

The cytokinin : auxin ratio (on conditions that cytokinin equals '1') was 1:2.2 (in control variant), 1:1.5 (in seeds treated with WGA) and 1:2.9 (in seeds treated with ClcNAc) thus indicating on increasing role of cytokinins as compared to IAA under the effect of exogenous WGA and substantial increase of IAA level as compared to cytokinins as affected by GlcNAc.

Biological activity of WGA and GlcNAc is being prolonged and is revealed in changes of phytohormonal balance in wheat leaves resulting in involvement of given molecules to plant's physiological programs control via plant hormones. Thus, it was established that WGA application had increased total RNA level (2.4 fold) in wheat leaves; endogenous lectin activity (1.5–3.5-fold); chlorophyll contents (1.3-fold); grain yield (up to 22%). Treatment with GlcNAc had resulted in significant activation of wheat rhizogenesis (root mass indices have exceeded the control ones 1.5 times, and the ones in variant with WGA treatment 1.2 times) and functional ability of rhizospheric nitrogen fixing microorganisms (2.2-fold increase of nitrogenase activity as compared to control and 1.4-fold – to WGA application).

Therefore, it was shown that positive changes of endogenous level of auxin and cytokinins in growing plants are among the constituents of exogenous influence of WGA and GlcNAc on seeds that determines, certainly, the genetic program of plants growth and development.

ВПЛИВ КРОПИВИ ДВОДОМНОЇ НА АНТИОКСИДАНТНУ АКТИВНІСТЬ ТА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ М'ЯЗОВИХ ТКАНИН КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ

КОЛЕСНИК Д. М., ХРОМИШЕВ В. О., ДАНЧЕНКО О. О.

*Мелітопольський державний педагогічний університет
імені Богдана Хмельницького, Україна;
e-mail: danchenko.ea@mail.ru*

Зусиллями видатних генетиків промислове птахівництво останнім часом отримало нові високопродуктивні породи і кроси свійської птиці. Втім, дуже часто господарствам не вдається повністю реалізувати її генетичний потенціал. Причиною тому є стреси, зумовлені відхиленням технологічних умов, у тому числі й раціону, від оптимальних. Застосування антиоксидантів на тлі повноцінного збалансованого годування птиці забезпечує зменшення негативних наслідків стресу. Кропива дводомна – найважливіший вітамінний корм для свійської птиці, що має багатий хімічний склад та проявляє антиоксидантні властивості. Тому метою експерименту було з'ясування впливу борошна кропиви дводомної на антиоксидантну активність (АОА) та жирнокислотний склад (ЖКС) м'язової тканини курчат-бройлерів.

Дослідження проводилися на курчатах-бройлерах кросу «Росс-308» з добового до 42-денного віку. Курчата дослідної групи з другого тижня до кінця експерименту додатково отримували кормову рослинну добавку у вигляді борошна кропиви дводомної в кількості 2% до маси основного раціону. Стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ) м'язової тканини курчат-бройлерів оцінювали за коефіцієнтом КАОА, який визначали як відношення вихідного рівня пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ без ініціації Fe^{2+}) до індукованого Fe^{2+} ПОЛ. ЖКС визначали методом газорідної хроматографії.

Результатами досліджень встановлено, що згодовування борошна кропиви дводомної сприяло підвищенню АОА м'язової тканини 14-добових курчат на 38,2% і надалі з 21-ої до 35-ої доби ця різниця між контрольною і дослідною групами збільшувалась у 2,58 і 3,50 рази відповідно. Останній тиждень досліду характеризувався достовірним зниженням АОА м'язової тканини курчат дослідної групи (на 24,4%), втім і в 42-добових пташенят цей показник дослідної групи перевищував контроль в 3,09 рази, а за середнім значенням – в 1,68 рази відповідно. Впродовж перших 14 діб постнатального розвитку вміст поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) достовірно зріс (на 49,4%). Весь останній період досліду характеризувався стабільним вмістом ПНЖК. Вміст незамінної лінолевої кислоти в м'язах курчат дослідної групи з 14- до 28-ої доби утримувався на рівні відповідного контрольного показника і тільки наприкінці досліду набув тенденції до зниження. Рівень ліноленової кислоти в курчат дослідної групи, навпаки, з 28- до 42-ої доби характеризувався достовірно (на 76,1 і 28,9% відповідно) вищим вмістом порівняно з контролем. Водночас вміст арахідонової кислоти в м'язах курчат дослідної групи впродовж усього досліду нижчий за контроль. Доведено, що додавання кропиви до раціону птиці сприяло тому, що середня маса 42-добових курчат дослідної групи перевищила відповідний показник контрольної групи на 22,9%.

Отже, згодовування борошна кропиви дводомної курчатам-бройлерам у зазначеному режимі сприяє підвищенню АОА їх м'язової тканини в 1,7 рази. На тлі сталого рівня ПНЖК відбувається достовірне збільшення вмісту ліноленової кислоти за одночасного зниження вмісту арахідонової, що в цілому можна вважати позитивними змінами ЖКС ліпідів м'язових тканин курчат.

**ВПЛИВ УФ-А ОПРОМІНЕННЯ НА НАКОПИЧЕННЯ
ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ЛИСТКАХ ГРЕЧКИ ТАТАРСЬКОЇ
(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.)**

КОСЯН А. М., МУСІЄНКО М. М.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: A_Kosyan@ukr.net*

Характерною ознакою рослин роду *Fagopyrum* є накопичення в їхніх тканинах значних кількостей фенольних сполук і, зокрема, флавоноїдів та фагопірину. Очевидно це явище є адаптивною реакцією рослин до негативного впливу навколишнього середовища. Оскільки центром походження представників цього роду є високогірні райони Тибету, де спостерігається підвищений рівень ультрафіолетових променів, наявність в тканинах рослин саме цих сполук може слугувати надійним бар'єром проти згубної дії опромінення. Метою роботи було вивчення дії УФ-А опромінення рослин гречки татарської, *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn., на накопичення фенольних сполук в її листках.

Досліди проводились в польових умовах. Насіння гречки татарської *var. tuberculatum* висівали і через 10 днів після посіву рослини дослідного варіанту почали досвічувати упродовж світлового періоду доби УФ лампами (F15T8 BLB-15 W, Sylvania) встановленими на висоті 70 см над поверхнею ділянки. На 30-й день вегетації з рослин відбирались зразки листків у яких відразу ж визначалась активність фенілаланін-аміак-ліази. Для кількісного аналізу фенольних сполук матеріал фіксували шляхом термічної обробки при 80 °С упродовж 30 хв і висушували при 40 °С. Досліди проводились у 5-кратній повторності. Отримані дані були математично обраховані з допомогою однофакторного дисперсійного аналізу за Фішером.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що опромінення рослин гречки татарської УФ-А променями зумовлює підвищення активності одного з ключових ензимів фенілпропанойдного шляху біосинтезу, а саме фенілаланінаміак ліази. Так у контрольному варіанті її активність становила 128 нМоль *транс*-коричної кислоти·г⁻¹·год⁻¹, тоді як у дослідному 164 нМоль *транс*-коричної кислоти·г⁻¹·год⁻¹, тобто активність ензиму зросла на 28,1%, при рівні достовірності 95%.

Також за дії УФ-А опромінення у листках гречки спостерігалось достовірне підвищення вмісту фенольних сполук, а саме: загальних фенолів – контроль 97,60 мг/г сух. реч., дослід 117,20 мг/г сух. реч.; фенолкарбонових кислот – 1,70 мг/г сух. реч., дослід 2,10 мг/г сух. реч.; рутину – контроль 90,10 мг/г сух. реч., дослід 109,40 мг/г сух. реч.; кверцитрину – 4,01 мг/г сух. реч., дослід 4,55 мг/г сух. реч.; фагопірину – контроль мг/г сух. реч., дослід 0,37 мг/г сух. реч. Тобто збільшення вмісту фенольних сполук становило, для загальних фенолів – 18,2%, фенолкарбонових кислот – 21,1%, рутину – 19,3%, кверцитрину – 12,6%, фагопірину – 46,7%, при рівні достовірності 99,5% для всіх показників.

Підводячи підсумки проведеної роботи можна зробити висновок, що однією з функцій наявності флавоноїдів та фагопірину в тканинах гречки є захист рослин від надмірного УФ-опромінення.

**ALPHA-KETOGLUTARATE MODIFIES TOXIC
ACTION OF SODIUM NIROPRUSSIDE AND ETHANOL
ON *Drosophila melanogaster***

LYLYK M., SHMIHEL H., KOZACHOK O., BAYLIAK M.

*Vassyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine;
e-mail: marialylyk@ukr.net*

Alpha-ketoglutarate (AKG) is an important intermediate in cell metabolism linking anabolic and catabolic processes. Recently, AKG has been started to be studied as dietary supplement to improve overall functional state of organisms and to prevent development of aging-associated diseases. In particular, it was

proposed to use AKG for stabilization of redox homeostasis in aged organisms and under exposure of animals and cell cultures to many toxic agents such as cyanide, ammonia, amines and hydrazines. In this context, this study aimed to elucidate the ability of exogenous AKG to reduce the toxic action of sodium nitroprusside (SNP) and ethanol on fruit fly *D. melanogaster*, which is widely used as a model subject to study many aspects of biology of higher eukaryotes.

Fruit fly *D. melanogaster* line W¹¹¹⁸ were developed on yeast-sucrose medium containing 10% pressed yeast, 10% sucrose, 1% agar, 0.18% nipagin, and sodium salt of alpha-ketoglutarate at different concentrations. The medium was supplemented also with different concentrations SNP and ethanol. The rate of pupation of *D. melanogaster* W¹¹¹⁸ on different media was studied.

Supplementation of the culture medium with AKG at concentrations of 0.1-10.0 mM did not affect the rate of development of the fruit fly *D. melanogaster* W¹¹¹⁸. The addition of ethanol and SNP to AKG-free media slowed significantly the development of flies. The combined consumption of AKG and ethanol partly weakened embryotoxic effect of ethanol that was reflected in the increase of the total number of formed pupae. AKG at used concentrations did not alleviate embryotoxic effect of SNP on fruit flies. Two-day-old adult males and females of *D. melanogaster* fed with 10 mM AKG-supplemented medium were more sensitive to 1 mM SPN than control individuals. Sensitivity to this xenobiotic reduced by combining treatment of adult AKG-fed flies with AKG and SNP. The releasing of cyanide ion by SNP decomposition may be one of mechanisms of SNP toxicity. It can be proposed, that AKG can react with cyanide ion as it was shown earlier and thus prevent partially the toxic SNP effects. Regarding ethanol toxicity, AKG can promote to metabolize of ethanol in Krebs cycle that is seems to be intensified by consumption of exogenous AKG by fruit flies.

In summary, our results suggest that AKG can act as a partial antidote of such toxic agents as sodium nitroprusside and ethanol on *D. melanogaster*.

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ БПС-44 ТА ЦЕОЛІТУ НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ РУБЦЯ ВРХ ЗА ДІЇ АФЛОТОКСИНУ В 1 *IN VITRO*

ЛУЧКА І. В., ДЗЕНЬ Є. О., ПАНЧУК І. В., АНТОНЯК Г. Л.

*Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна;
e-mail: i_luchka@inenbiol.com.ua*

Рослинні корми, що споживають жуйні тварини часто забруднені мікроскопічними грибами та продуктами їхнього вторинного метаболізму. У зв'язку з цим із кормом може надходити низка токсинів, які виявляють негативний вплив на мікроорганізми в передшлунках тварини-господаря і на організм тварини загалом. Споживання таких кормів спричиняє у тварин зниження продуктивності, а в окремих випадках – масові отруєння. Одним із найнебезпечніших мікотоксинів вважається афлатоксин В1, який шкідливо впливає на організм тварин (савці, птахи, риби) і людини. Органом-мішенню гострого і хронічного впливу цього токсину є печінка, крім того він проявляє і канцерогенну дію. На сьогодні афлатоксин В1 вважають найтоксичнішим природним гепатотоксином із усіх відомих сполук.

Метою дослідження було дослідити ріст мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби, їх функціональний стан і рівень метаболітів у середовищі рубця за дії афлатоксину В 1 і при додаванні різних кількостей бацилярного препарату на основі пробіотичного штаму *Bacillus subtilis* (БПС-44) та природного сорбенту – цеоліту.

Для досліджень *in vitro* відбирали вміст рубця від дійних корів чорно-рябої молочної породи, що утримувались у віварії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. Вміст рубця відбирали через 2 год після ранкової годівлі. Фільтрували і вносили у середовище інкубації (середовище Мак Доугля), додавали досліджувані субстрати, проводили барбітування вуглекислим газом і інкубували при 38 °С протягом 24 год.

Після інкубації визначали рН, бактеріальну масу, рівень аміаку, протеолітичну, целюлозолітичну та амілолітичну активності.

Проведені дослідження впливу різних доз афлатоксину В 1 на вміст рубця показали зниження ензиматичної активності мікроорганізмів рубця, що виявлялося у зниженні рівня протеїну, кількості мікробної маси та у зниженні гідролітичної активності мікроорганізмів.

Було встановлено вірогідне зниження на 11, 16 і 17,8% ($P < 0,05$) мікробної маси при додаванні до середовища інкубації 0,5, 0,75 та 1 мкг/л афлатоксину В 1 і зниження рівня протеїну на 18% ($P < 0,01$) 15,6% ($P < 0,05$) відповідно. Також відмічено зниження активності протеаз та амілаз ($P < 0,05$).

За низької концентрації афлатоксину В 1 (0,5 мкг/л) у середовищі інкубації додавання в середовище інкубації препарату БПС-44 та цеоліту, знижувало токсичну дію афлатоксину В 1 на мікроорганізми рубця за його різної концентрації, що виявлялось у збільшенні кількості протеїну, мікробної маси та у зростанні протеолітичної і амілолітичної активності та активності целюлаз. Збільшення, у середовищі інкубації, кількості афлатоксину В 1 до 0,75 і 1 мкг/л за одночасного додавання різних доз БПС-44 та цеоліту нормалізувало ензимні процеси вмісту рубця до рівня їх інкубації з афлатоксином В 1, що проявлялось у зростанні кількості мікробної маси та бактеріального протеїну, амілолітичної та протеолітичної активності, збільшенні кількості аміаку. Але ці зміни не перевищували значень у контролі.

З отриманих результатів можна зробити висновок про можливість сумісного використання препарату бацилярного БПС-44 та цеоліту у годівлі ВРХ для нівелювання негативного впливу афлатоксину В 1 на організм тварин.

ФОРМУВАННЯ КОЛОСТРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ ПІД ВПЛИВОМ НАТИВНИХ І НАСИЧЕНИХ ВІТАМІНАМИ А ТА Е ЛІПОСОМ

МАРИНЮК М. О., ЯКИМЧУК О. М., ЦВІЛІХОВСЬКИЙ М. І.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: marynyuk_to@nubip.edu.ua*

У зв'язку з особливостями будови плаценти корів, яка перешкоджає проходженню антитіл з організму матері в організм плода, теля народжується беззахисним до потенційно патогенних чинників. Тому, основне місце в захисті телят у ранній постнатальний період належить гуморальній імунній системі, яка обумовлена формуванням достатнього рівня пасивного (колострального, молочивного) імунітету.

Одним із суттєвих факторів, які визначають формування пасивного імунітету в новонароджених телят, є здатність ентероцитів тонкого кишечника ефективно адсорбувати імуноглобуліни (Ig) з молозива корови-матері. Вона визначається структурно-функціональними особливостями плазмолемми ентероцитів тонкого кишечника теляти в період новонародженості, які залежать від її ліпідного і протеїнового складу, в'язкості, рівня поліпептидних мембранних рецепторів до Ig, активності транспортних аденозинтрифосфатаз та інших факторів. Метою даної роботи було дослідити рівень колострального імунітету у новонароджених телят, яким застосовували з молозивом нативні ліпосоми із соєвого лецитину, а також ліпосоми, що містили вітаміни А та Е.

До випоювання молозива новонародженим телятам у сироватці їх крові було відмічено незначний вміст протеїнів імуноглобулінової фракції ($0,31 \pm 0,06$ г/л). Це підтверджує дані про те, що тільки біля 5% Ig може проходити плацентарний бар'єр від корови-матері до плода, а інша їх частина має потрапити в організм новонародженого з молозивом. Після випоювання молозива рівень Ig у сироватці крові телят контрольної групи швидко зростав і мав максимальне значення $14,8 \pm 0,25$ г/л на 3-ю добу їх життя, а потім залишався відносно стабільним до 7-ми добового віку тварин з подальшим поступовим зниженням.

Під час застосування телятами першої дослідної групи з молозивом нативних ліпосом у дозі 5 мл, встановлено більш швидке зростання рівня Ig у сироватці крові з максимальним значенням $24,8 \pm 0,23$ г/л до кінця 1-ї доби життя тварин і цей показник впродовж досліджу був у 1,55–1,90 рази вищим ($P < 0,001$), порівняно з телятами контрольної групи.

Застосування з молозивом телятам другої дослідної групи ліпосом (5 мл), які містили в своєму складі вітаміни А (4000 МО) та Е (15 мг) дозволило підвищити вміст Ig у сироватці крові на 6-ту годину життя до $30,2 \pm 1,24$ г/л, а на 24-ту годину – до $35,6 \pm 0,30$ г/л і цей показник залишався майже незмінним до 3-добового віку тварин з подальшим поступовим зниженням. Вміст Ig у сироватці крові телят другої дослідної групи був у 1,87 ($P < 0,001$) і 1,24 ($P < 0,01$) рази достовірно вищим порівняно з телятами контрольної і першої дослідної груп відповідно.

На нашу думку, нативні ліпосоми та ліпосоми, що містять вітаміни А та Е, стабілізують плазмолему ентероцитів тонкого кишечника новонароджених телят шляхом їх взаємодії з мембранними протеїнами і ліпідами. Це забезпечує необхідну мікрів'язкість та активність імунорецепторних протеїнів плазмолемі ентероцитів до Ig молозива, що сприяє формуванню високого рівня колострального імунітету в новонароджених телят.

Отримані нами дані важливі з точки зору забезпечення високої резистентності організму до патогенних чинників і профілактики незаразної та інфекційної патології в новонароджених тварин.

ВМІСТ КАЛЬЦІЮ В ОРГАНІЗМІ КРОЛІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ЗА ДІЇ СТРОНЦІЮ ХЛОРИДУ

МЕЛЬНИКОВА Н. М., КЛІХ Л. В.

Національний університет біоресурсів та природокористування України, Київ;
e-mail: larisa-klkh@rambler.ru

В умовах сучасної екологічної кризи однією з актуальних проблем є забруднення довкілля. Серед хімічних забруднювачів навколишнього середовища важливе місце займають важкі метали та їх сполуки, які відносяться до групи токсикантів і є факторами небезпеки для організму людини і тварин [Мельничук Д. О., 2008]. Як відомо з літературних джерел, важкий метал стронцій відносять до мікроелементів тому, що кількість його в організмі складає 10^{-3} – 10^{-5} до маси тіла. Згідно результатів, отриманих попередніми дослідниками, надлишок катіонів стронцію може зумовлювати зміну розподілу мінеральних елементів в організмі тварин [Мельникова Н. М., 2009]. Особливо змінюється розподіл тих елементів, які вважаються його аналогами, одним із яких є кальцій. Тому важливо визначити вплив стронцію на розподіл кальцію в організмі кролів, отруєних стронцієм.

Дослідження виконані на чотирьох групах тварин, у кожену з яких було відібрано по 7 кролів породи «Радянська шиншила»: перша і друга групи – інтактні 3-х (молоді) та 12-ти (старі) місячні кролі; третя та четверта групи – молоді та старі кролі, отруєні *per os* стронцію хлоридом у дозі 50 мг/кг маси тіла тварин. Дослід тривав протягом 14 діб. Для проведення біохімічних досліджень від кролів відбирали зразки печінки, нирок, серця, кісток та крові. Вміст кальцію в досліджуваних зразках визначали спектрохімічним методом, використовуючи режим абсорбції в повітряно-ацетиленовому полум'ї на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС-30, фірми «Карл Цейс» (Німеччина).

Вміст кальцію у крові кролів обох вікових груп, отруєних стронцію хлоридом вищий, ніж у відповідній групі інтактних тварин, при чому у молодих кролів на 33%, у старих – на 29%. У печінці молодих кролів вміст кальцію збільшився на 41%, а у старих – на 39%. При цьому у кістках молодих та старих кролів спостерігалось зниження вмісту цього елемента відповідно на 29 та 34%. У нирках молодих та старих отруєних тварин спостерігалось збільшення вмісту цього елемента відповідно на 30 та 26%.

Отже, стабільний стронцій має значну біологічну активність і змінює перерозподіл кальцію в отруєному організмі, проте суттєві зміни спостерігаються саме в органах молодих тварин, для яких вони є найнебезпечнішими.

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СПЕКТР ЛІПІДІВ ВНУТРІШНЬОЇ МЕМБРАНИ МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ

*МЕЛЬНИЧУК С. Д., МІДИК С. В., МОРОЗОВА В. С.,
ХИЖНЯК С. В., УМАНСЬКА А. В., ВОЙЦІЦЬКИЙ В. М.*

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: khs2014@ukr.net*

Потенційна можливість ссавців адаптуватись до умов низьких температур – це актуальна проблема сучасної біології. Штучна гіпотермія з використанням гіпоксі-гіперкапічних середовищ за зниження температури знаходить широке використання у сільському господарстві, у тому числі ветеринарній медицині, внаслідок можливості тимчасового значного пригнічення обміну речовин та рівня вживання кисню. Важлива роль при переході функцій організму ссавців до зниженого рівня активності в умовах низької температури оточуючого середовища відводиться ліпідам, враховуючи їх значення для фізико-хімічних, функціональних властивостей біологічних мембран та регуляції метаболізму. Так модифікація жирнокислотного складу мембранних фосфоліпідів впливає на процеси окислювального фосфорилування мітохондрій. Це обумовило мету роботи, яка полягала в дослідженні жирнокислотного складу фосфоліпідів внутрішньої мембрани мітохондрій печінки щурів за штучного гіпобіозу.

Створювали стан штучного гіпобіозу методом «закритої судини» в умовах гіпоксі-гіперкапнії при зниженні температури. Тварин декапітували у стані штучного гіпобіозу (за температури тіла 16 °С) та через 24 год після виходу із гіпобіозу (за температури тіла, як і у контролі 37 °С). Внутрішню мембрану мітохондрій печінки отримували методом диференційного центрифугування. Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча. Метиллові ефіри жирних кислот (ЖК) аналізували на газовому хроматографі Trace GC Ultra (США). Для кількісної оцінки спектра ЖК використовували метод нормування площі піка.

Показано, що у внутрішній мембрані мітохондрій переважають ненасичені ЖК (найбільший вміст становить олеїнова, лінолева, арахідонова). Серед насичених ЖК переважає пальмітинова та стеаринова. За штучного гіпобіозу жирнокислотний спектр ліпідів не відрізняється від контролю, однак спостерігається перерозподіл у вмісті окремих ЖК. Вміст пальмітинової, стеаринової та гептадеканової кислот зростає в середньому на 21%. Водночас вміст олеїнової та лінолевої кислот знижується на 37%, а ліноленової – в 2,5 раза, що свідчить про активність фосфоліпази за цих умов. Водночас, зростає вміст арахідонової (на 15%) та докозагексаєнової (на 29%) кислот. Причому, сумарний вміст насичених ЖК зростає в середньому на 20%, а ненасичених – знижується, що обумовлює зростання співвідношення насичені/ненасичені кислоти. Через 24 год після зняття дії чинників гіпобіозу не спостерігається повернення вмісту насичених та ненасичених ЖК до рівня контролю. Більш того, відмічено подальше зростання вмісту докозагексаєнової кислоти (на 37% відносно контролю), що може мати регуляторну роль в умовах активації синтезу простагландинів внаслідок біохімічної трансформації арахідонової кислоти, вміст якої за цих умов – зростає.

Таким чином, показано модифікації у вмісті ЖК ліпідів внутрішньої мембрани мітохондрій печінки щурів за штучного гіпобіозу. Зростання ступеня насиченості ЖК мембранних ліпідів може впливати на енергетичну функцію мітохондрій. Зміни у вмісті ЖК фосфоліпідів як за гіпобіозу, так і після зняття дії чинників гіпобіозу свідчать про їх регуляторну роль. Дослідження ролі ЖК фосфоліпідів необхідно для розуміння шляхів адаптації ссавців до низьких температур, а також пошуку шляхів підтримки довготривалого та безпечного гіпобіозу.

БІОХІМІЧНІ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ У ФОРМУВАННІ СТІЙКОСТІ ЗЛАКОВИХ РОСЛИН ДО БІОТИЧНИХ ТА АБІОТИЧНИХ НЕСПРИЯТЛИВИХ ЧИННИКІВ ДОВКІЛЛЯ

*МОЛОДЧЕНКОВА О. О., АДАМОВСЬКА В. Г., ЛИХОТА О. Б.,
БЕЗКРОВНА Л. Я., ЛЕВИЦЬКИЙ Ю. А.*

*Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства
та сортовивчення НААН України, Одеса;
e-mail:olgamolod@ukr.net*

Одним із пріоритетних завдань сучасної біології є вивчення механізмів формування стійкості рослин до несприятливих біотичних та абіотичних чинників довкілля та ролі в цих процесах біохімічних систем захисту. Відомо, що в захисних механізмах рослин при стресах різної природи беруть участь інгібітори трипсину, лектини, фенілаланінаміакліаза, дегідрини, сахарозофосфатсинтаза. Одним із індукторів захисних реакцій рослин є жасмонова кислота, яка виконує функції сигнального інтермедіанту та фітогормону.

Метою роботи було дослідити вміст, активність та компонентний склад захисних протеїнів та ензимів у рослинах зернових культур при зараженні збудниками фузаріозу, за дії жасмонової кислоти, в умовах гіпо-гіпертермії та водного дефіциту. Дослідження були проведені на зерні, проростках та дорослих рослинах 20 ліній, сортів та гібридів пшениці (*Triticum aestivum* L.), ярого ячменю (*Hordeum vulgare* L.) та кукурудзи (*Zea mays* L.), які достовірно відрізнялися за рівнем стійкості до збудників фузаріозу, посухо-жаростійкості, морозостійкості.

У результаті проведених досліджень виявлені закономірності зміни активності та компонентного складу інгібітора трипсину, активності лектинів клітинних стінок і фенілаланінаміакліази в проростках сортів пшениці та ячменю, що відрізнялися за рівнем стійкості до збудників фузаріозу та альтернаріозу, при інфікуванні патогенами та дії жасмонової кислоти. Встановлені оптимальні терміни впливу жасмонової кислоти, за яких спостерігався максимальний ефект її дії на захисні протеїни рослин. Виявлений взаємозв'язок між стійкістю сортів пшениці до збудників фузаріозу, альтернаріозу та кількістю лектинових мРНК у рослинах. Показані певні відмінності реакції-відповіді проростків зернових культур на інфікування збудниками фузаріозу, альтернаріозу і вплив специфічних інгібіторів (α -амінооксипроїчної кислоти і D-фенілаланіну). Ці відмінності полягають у різному ступені зміни активності фенілаланінаміакліази залежно від стійкості сорту чи лінії до грибних патогенів, чинника впливу та досліджуваної культури.

Показано, що вплив абіотичних стресорів (водного дефіциту, гіпер-гіпотермії) призводить до неспецифічних та специфічних змін у характері накопичення та перерозподілу лектинів клітинних стінок та в електрофоретичних спектрах дегідринів рослин пшениці, що відрізняються за рівнем посухостійкості та морозостійкості. Висловлене припущення, що синтез цих протеїнів знаходиться під контролем абсцизової кислоти, зростання кількості якої спостерігалось в тканинах рослин пшениці. Встановлені особливості зміни вмісту сахарози та активності сахарозофосфатсинтази в проростках злакових рослин (пшениці, ячменю, кукурудзи) в умовах водного дефіциту та гіпертермії в залежності від рівня посухостійкості ліній і сортів зернових культур.

Реакція-відповідь рослин зернових культур на дію біотичних та абіотичних чинників чітко регулюється взаємодією окремих компонентів біохімічної системи захисту. Регулюючий ефект біохімічних реакцій визначається природою чинника впливу та швидкістю мобілізації механізмів захисту, які мають особливості прояву залежно від ступеня стійкості рослин та досліджуваної культури.

Отримані результати та подальші дослідження в цих напрямках дозволять удосконалити існуючі методи оцінки селекційного матеріалу на стійкість до біотичних та абіотичних несприятливих чинників, стануть основою для створення ефективних індукторів стимулювання та управління захисними системами рослин зернових злакових культур.

КОРЕКЦІЯ ПОКАЗНИКІВ ВМІСТУ ЛІПІДІВ У КРОВІ ЛАКТУЮЧИХ КІЗ ЗА ПОРУШЕНЬ МІНЕРАЛЬНОГО ОБМІНУ

НЕМОВА Т. В., ЦВІЛІХОВСЬКИЙ М. І.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: vetmed_nt@mail.ru*

Контроль стану обміну ліпідів в організмі кіз під час лактації має бути на достатньому рівні, так як активація процесів ліполізу в цей період може призвести до виникнення типових ознак кетозу, ацидозу, порушення функцій печінки тощо. Метою роботи було дослідити показники вмісту ліпідів у крові лактуючих кіз та здійснити їх корекцію за порушень мінерального обміну у цих тварин.

Дослідження проводились впродовж 28-ми діб на козах зааненської породи з порушенням мінерального обміну (1 – контрольна і 2 – дослідні групи, по 7 тварин у кожній групі), починаючи з 2-го місяця лактації. Кози контрольної групи отримували корми згідно основного раціону.

Кози першої дослідної групи з кормами основного раціону отримували кормову добавку Сел-Плекс, до складу якої входить органічний селен у вигляді селенометіоніну, селеноцистеїну та ін. органічні сполуки, з розрахунку 0,04 г на 1 кг маси тіла тварини тричі на добу. Кози другої дослідної групи з кормами основного раціону отримували розроблений нами препарат Капремін-Лакт, до складу якого входить йод крохмальний, цинку лактат, купруму лактат, триетаноламінна сіль селенової кислоти, мівал та вермикуліт з розрахунку 0,06 г на 1 кг маси тіла тварини 1 раз на добу.

Ліпіди плазми крові кіз, після їх екстрагування в системі хлороформ/метанол, визначали методом тонкошарової хроматографії. Кількісне визначення ліпідів проводили методом спектрофотометрії: загального і етерифікованого холестеролу – за допомогою заліза трихлорного; загальних фосфоліпідів (ФЛ) і триацилгліцеролів (ТГ) – гідроксаматним методом, насичених і ненасичених жирних кислот (ЖК) – методом газорідинної хроматографії з використанням приладу “Кристал-Люкс 4000”; вільних ЖК – за допомогою 1,5-дифенілкарбазиду.

Встановлено, що застосування препарату Сел-Плекс сприяє достовірному підвищенню вмісту в плазмі крові лактуючих кіз загального холестеролу і ТГ ($P \leq 0,05$), моно- і поліненасичених ЖК ($P \leq 0,001$), зниженню вмісту ФЛ і насичених ЖК ($P \leq 0,001$).

Застосування препарату Капремін-Лакт сприяло достовірному підвищенню вмісту у плазмі крові лактуючих кіз моно- і поліненасичених ЖК ($P \leq 0,001$), зниженню вмісту етерифікованого холестеролу, ФЛ і насичених ЖК ($P \leq 0,001$). Для адекватної оцінки стану обміну ліпідів в організмі тварин, слід враховувати зміни коефіцієнта етерифікації холестеролу. Причиною зниження вмісту етерифікованого холестеролу в плазмі крові кіз дослідних груп може бути дефіцит або надмірний вміст у раціоні ліпідів чи вуглеводів.

Зниження вмісту ФЛ у плазмі крові лактуючих кіз дослідних груп може бути пов'язане з їх участю в синтезі молочного жиру в зв'язку з активізацією процесів молокоутворення і підвищення молочної продуктивності у цих тварин.

Про стабільність процесів кетогенезу та енергозабезпеченості організму кіз дослідних груп свідчить незмінний впродовж дослідів рівень вільних ЖК у плазмі їх крові.

Слід зауважити, що стан обміну ліпідів в організмі кіз пов'язаний з якісним складом секретованого молока, що впливає на життєздатність отриманого приплоду. Так, при споживанні молока (молозива) матері, у новонароджених козенят, до періоду становлення функцій передшлунків, окрім колострального імунітету, таким чином формується власний ліпідний спектр плазми крові, в якому важливе значення мають моно- і поліненасичені ЖК.

**TISSUE ACCUMULATION OF CHROMIUM IN RATS
FED DIETS CONTAINING NEW YEAST CHROMIUM
BIOCOMPLEXES AND CHROMIUM CHLORIDE**

¹NECHAI G. I., ²BRODA D., ²GORKA A., ²WNUK M., ^{1,2}GONCHAR M. V.

¹Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;

²Institute of Applied Biotechnology and Basic Sciences,

Rzeszow University, Kolbuszowa, Poland;

e-mail: nechai_g@ukr.net

A large number of nutritional studies have suggested that chromium (Cr) in the +3 oxidation state is important for insulin-dependent carbohydrate and lipid metabolism in mammals, also there known the influence of Cr(III) on body composition, including increased muscle mass and/or decreased percentage body fat. However, this positive potential of Cr(III) depends on the chemical form, bioavailability, dosage and the duration of the treatment.

Recently in our laboratory it was discovered that baker's yeast and some non-conventional yeasts (methylotrophic or carotene-synthesizing) possess the ability to reduce extracellular Cr(VI) to Cr(III) complexes. We assumed that those yeast Cr(III) biocomplexes could be an alternative to known Cr(III) compounds to be used as feed supplement. Thus, the purpose of the present study was to evaluate the effect of yeast Cr(III) biocomplexes supplementation on chromium accumulation in rats fed on diets with these compounds.

Yeast chromium biocomplexes were obtained due to yeast ability to reduce chromate extra-cellularly with formation of stable Cr(III)-biochelatate complexes. The carotene-synthesizing yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*) NRRL Y-10921 and methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* tr1 from the collection of microorganisms of the Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine were used for this purpose. We have developed the methods for concentration, fractionation and general characterization of Cr(III) biocomplexes from the yeast cultural liquid.

The male Wistar rats ($n = 12$), with an initial body weight of approximately 90 g, were divided into 4 groups. Group I received a standard diet which contained 1.2 ppm of Cr (control group); group II were fed on standard diet and received chromium chloride (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight, in respect of Cr(III) per day); group III were supplemented with *H. polymorphas* Cr(III) biocomplexes, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight, in respect of Cr(III) per day; group IV received a standard diet with *P. rhodozymas* Cr(III) biocomplexes, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight, in respect of Cr(III) per day. Animals were killed on 30th day of the experiment and their kidney, femoral muscle and femur were taken for analysis. The content of Cr in rats tissue were determined by atomic absorption spectrometry AAS-3 using graphite cuvette (Carl-Zeis Jena).

Supplementing diets with all types of Cr(III) compounds which were under investigation resulted in significantly higher Cr content in the kidneys of rats. Femoral muscle Cr content was significantly higher in the rats fed on diet supplemented with *H. polymorphas* Cr(III) biocomplexes and *P. rhodozymas* Cr(III) biocomplexes ($P < 0.05$) compared to the rats fed on a standard diet. The highest femur Cr content was observed in the rats fed on diets containing *P. rhodozymas* Cr(III) biocomplexes ($P < 0.01$).

The results of the present study suggest that Cr(III) biocomplexes produced by the yeast *H. polymorpha* and *P. rhodozyma* have a significant effect on the chromium balance in rat tissues. Accumulation of Cr(III) in kidneys, femoral muscle and femur of rats which were fed on diets containing *H. polymorphas* and *P. rhodozymas* Cr(III) biocomplexes in a 30-day period study was significantly more effective than in the chromium chloride case. The mechanisms underlying these effects and possible scientific and commercial implications of Cr(III)-biocomplexes are require further research.

Acknowledgements. This work was supported by the International Visegrad Fund.

КОРЕКЦІЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ МОЛОДНЯКУ НОРОК У ПЕРІОД ЗАКЛАДКИ ЗИМОВОГО ХУТРА

ПАЛЮХ Т. А., ЦВІЛІХОВСЬКИЙ М. І.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: tanya_25_82@bk.ru*

Дослідження показників крові дуже важливо під час вивчення біологічних особливостей норок. Так, знання картини крові на певних етапах росту і розвитку дозволяє встановити спадкову обумовленість ряду ознак і доцільність використання вказаних показників для виявлення патологій у цих звірів. Метою роботи було здійснити корекцію порушень мінерального обміну в організмі молодняку норок у період закладки зимового хутра.

Дослідження проводились на 3-х групах (1 – контрольна і 2 – дослідні) молодняку норок коричневої Переяславської породи в період закладки зимового хутра. Молодняк норок контрольної групи отримував корми згідно основного раціону; молодняк норок першої дослідної групи отримував корми основного раціону та вітамінно-мінеральний премікс Пушноголд, до складу якого входять комплекс мінералів та вітамінів, а також мікостоп токсинів та антиоксидант. Молодняк норок другої дослідної групи отримував корми основного раціону і розроблений нами препарат Мінковіт, до складу якого входять лактатні сполуки купруму, мангану, цинку, кобальту, а також йод крохмальний, триетаноламінна сіль селенової кислоти, вітаміни А, В₂, В₃, В₄, В₇, В₉, С, Д і опока. Дослід тривав 21 добу. У крові тварин визначали вміст гемоглобіну, а в сироватці крові – вміст глюкози, сечовини, загального протеїну та його фракцій, активність аспартатамінотрансферази – (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ) і лужної фосфатази (ЛФ).

Встановлено, що біохімічні показники крові молодняку норок, які отримували препарат Мінковіт, порівняно з молодняком норок контрольної групи, характеризуються вірогідно вищою концентрацією гемоглобіну та загального протеїну ($P < 0,001$), нижчим вмістом сечовини ($P < 0,001$), протеїнів глобули нової фракції, глюкози ($P < 0,001$), і нижчою активністю АсАТ, АлАТ ($P < 0,001$) та ЛФ ($P < 0,01$). Порівняно з молодняком норок, які отримували вітамінно-мінеральний премікс Пушноголд вірогідно вищими були показники вмісту в крові гемоглобіну ($P < 0,01$), а в сироватці крові – глюкози ($P < 0,05$), тоді як нижчими був вміст сечовини ($P < 0,05$) і активність ЛФ ($P < 0,001$) та АсАТ ($P < 0,05$).

Підвищення з віком у сироватці крові молодняку норок рівня загального протеїну співпадає зі зниженням енергії росту тварин і змінами, які проходять у шкірі та волоссяному покриві внаслідок линьки і дозрівання волосу. Зниження вмісту глобулінів у сироватці крові молодняку норок може обумовлюватись тим, що в літній період зменшується поїдання корму тваринами до 40%. Тому, в організм надходить недостатня кількість протеїнів, що, в свою чергу, призводить до зниження вмісту окремих протеїнових фракцій у сироватці крові. Зниження концентрації сечовини та глюкози в сироватці крові молодняку норок контрольної групи порівняно з тваринами дослідних груп може вказувати на порушення сечовиноутворюючої та глікогенсинтезуючої функцій печінки в період закладки зимового хутра, тоді як додавання до корму тварин препарату Мінковіт запобігає розвитку таких змін. Зміни активності АсАТ і АлАТ у період росту молодняку норок відображають загальну тенденцію процесів обміну протеїнів, що пов'язана із синтезом пластичних, захисних та інших протеїнів у їх організмі. Висока активність ЛФ у сироватці крові молодняку норок пояснюється інтенсивним функціонуванням остеобластів кісткової тканини, зумовлених процесами активного росту.

Таким чином, результати досліджень вказують на позитивні зміни в процесах гемопоезу та метаболічних перетвореннях в організмі молодняку норок у період закладки зимового хутра, завдяки розробленому і застосованому нами засобу корекції порушень мінерального обміну.

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ ПРОТЕЇНІВ У СПЕРМІ КНУРІВ- І БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ

ПОЛІЩУК С. А., ЦЕХМІСТРЕНКО С. І., ПОЛІЩУК В. М., КОБЕРСЬКА В. А.

*Білоцерківський національний аграрний університет, Україна;
e-mail: vitnik2007@ukr.net*

Будь-який адаптивний чи патологічний процес перебігає на фоні утворення активних форм кисню, які за надмірного утворення атакують ліпіди та протеїни плазматичних мембран. Продукти окисної модифікації протеїнів мають триваліший період розпаду, порівняно з продуктами ліпопероксидації, що робить їх перспективним маркером оцінки інтенсивності вільнорадикального окислення у біологічних системах. Мета роботи – вивчення породних особливостей функціонування ензимів антиоксидантної системи захисту та вмісту продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) і окисної модифікації протеїнів (ОМП) у спермі кнурів та бугаїв-плідників.

Для дослідження було використано 8 кнурів-плідників великої білої породи та 8 кнурів синтетичної лінії SS23, а також 7 бугаїв голштинської породи. Матеріалом для дослідження слугувала плазма сперми та спермоцитоплазма. Стан процесів ліпопероксидації оцінювали за активністю каталази, супероксиддисмутази та за вмістом гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів і церулоплазміну. Інтенсивність ОМП – за вмістом альдегід- та кетондинітрофенілгідрозонів основного та нейтрального характеру.

Отримані дані свідчать про те, що перебіг процесів ліпопероксидації в організмі кнурів та бугаїв-плідників протікають з різною інтенсивністю. Концентрація первинних продуктів ПОЛ, а саме гідропероксидів ліпідів і дієнових кон'югатів у статевих клітинах кнурів-плідників була значно вищою, порівняно з аналогічними показниками в плазмі сперми. За вмістом ТБК-активних продуктів подібна тенденція не спостерігалася. У спермоцитоплазмі кнурів-плідників синтетичної лінії вміст дієнових кон'югатів був вірогідно вищим ($P < 0,01$), порівняно з показниками у групі чистопорідних тварин. Натомість концентрація вказаного продукту ПОЛ у плазмі сперми обох досліджуваних груп плідників була практично однаковою. Активність супероксиддисмутази в спермоцитоплазмі кнурів великої білої породи вища на 16,1%. Каталазна активність у плазмі сперми тварин синтетичної лінії нижча на 45% ($P < 0,05$). Вірогідних змін за вмістом церулоплазміну в спермі обох досліджуваних груп нами не виявлено. Вміст загального протеїну в плазмі сперми та спермоцитоплазмі кнурів синтетичної лінії SS23 вищий (на 17,6 та 4,6% відповідно) порівняно з чистопородними тваринами. Основна кількість динітрофенілгідрозонів, які утворилися, належать до альдегід- та кетондинітрофенілгідрозонів нейтрального характеру. Вірогідної різниці між цими показниками в проведених дослідженнях не виявлено. Вміст кетондинітрофенілгідрозонів основного та нейтрального характеру в плазмі сперми кнурів-плідників великої білої породи вищий (на 10,0%) порівняно з тваринами синтетичної лінії SS23. Натомість кількість аналогічних продуктів у спермоцитоплазмі чистопорідних кнурів нижча (на 11,6%), порівняно з показниками кнурів лінії SS23. Концентрація продуктів ОМП у плазмі сперми тварин обох груп значно вища проти показників спермоцитоплазми. Внутрішньоклітинний рівень окислених протеїнів показує баланс між інтенсивністю окислення та швидкістю деградації окислених протеїнів. При цьому слід зауважити, що вміст карбонільних сполук у спермоцитоплазмі кнурів-плідників синтетичної лінії вищий на 8,3%. Це вказує на те, що внутрішньоклітинне окислення протеїнів проходить інтенсивніше у кнурів лінії SS23.

Таким чином, дослідження процесів ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів свідчить про те, що сперма фізіологічно здорових кнурів та бугаїв-плідників характеризується інтенсивними обмінними процесами, які визначаються породними особливостями. Утворені продукти ПОЛ та ОМП – перспективні маркери для оцінки інтенсивності вільнорадикального окислення у біологічних системах.

**ANTIOXIDANT ENZYMES RESPONSE INDUCED
BY ALUMINIUM TOXICITY IN TWO BUCKWHEAT SPECIES**

SMIRNOV O. E.

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

Aluminium (Al) toxicity is a major agricultural problem reducing crop production on acid soils. Some of Al-toxicity induced genes are coding for antioxidant enzymes: superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), peroxidase (POD, EC 1.11.1.7). It has been suggested that there is a strong connection between Al-stress and oxidative stress in plants. Buckwheat genus (*Fagopyrum* Mill.) is one of the Al-tolerant taxonomic units of plants and interest for investigation and understanding Al-resistance mechanisms of crop plants causes buckwheat ability to Al-accumulation in vegetative mass. In this study activity of antioxidant enzymes in various parts (roots and leaves) of two buckwheat species – common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) and tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* G.) were investigated. Received data were used to explain the differences in Al-tolerance capacity between the buckwheat species.

Seeds of buckwheat were germinated in the dark at 25 °C in Petri dishes with deionized water. Plants were grown in sand culture in controlled conditions on ½ Knop solution. After 7 days the nutrient solution was contributed by 50 µM aluminium ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$) for Al-toxicity modeling. Each day the solutions with Al were adjusted to a pH of 4.5. For investigation of enzymes (SOD, CAT, POD) activity were used 17 day roots and leaves tissues of controlled and treatment plants. The activity of SOD in leaves of both species was significantly increased during plants exposure to Al, extremely on 8-10 days – by 2 times. Root SOD activity in common buckwheat was change during first 4 days, increased level was 132% of control value, on 6-10 days activity of SOD was obtain the control level. SOD activity in tartary buckwheat roots on 10 day was elevated by 8%. On 1-2 days CAT activity in common buckwheat roots was decreased by 27% and 8% respectively. But on further days of exposure tendency was altered – CAT activity was gradually increased – by 25% on 10 day. In tartary buckwheat roots CAT activity was increased during plants exposure to Al. CAT activity in leaves tissues was increased on 2 day of plants exposure to Al in both species. The most significant elevation for common buckwheat was revealed on 8 day of exposure – by 63%, for tartary buckwheat on 6-10 day of exposure by 79%. Al addition did not change significantly POD activity in leaves of common buckwheat over the whole 10 exposure days, POD activity was closure to the nominal values. POD activity in roots of common buckwheat was increased by 13-18% during 2-6 days exposure to Al. Therewith Al effect in roots tissues of tartary buckwheat was revealed as increase of POD activity by 14-38% on 1-4 days of treatment. In leaves maximum of POD activity was emerged on 8 day of exposure (by 18%).

Differences in antioxidant enzymes activities of two buckwheat species can be used for explain of Al-resistance mechanisms of buckwheat genus. Tartary buckwheat is wild type and ancestral form of buckwheat, possesses as more tolerant under stress conditions. It can be used as material for genetic modification of common buckwheat causing its high adaptive potential to severe environmental conditions.

ВПЛИВ ІНОКУЛЯЦІЇ РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ФОСФАТМОБІЛІЗУВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ НА КОМПОНЕНТИ ЛІПІД-ПІГМЕНТНОГО КОМПЛЕКСУ ЛИСТКІВ

*СТОРОЖЕНКО В. О., СВЕТЛОВА Н. Б., СЕРГА О. І.,
ТАРАН Н. Ю., БАЦМАНОВА Л. М.*

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: vstoro@ukr.net*

Фосфорне голодування рослин є однією з найрозповсюдженіших проблем, пов'язаних з нестачею розчинних форм фосфатів у ґрунті. Останні утворюються з важкорозчинних ґрунтових фосфатів за участю мікроорганізмів, здатних формувати мікробно-рослинні асоціації у ризосфері рослин. Саме за рахунок цих асоціацій відбувається поліпшення процесу мінералізації низькомолекулярних органічних фосфатів ґрунту до неорганічних фосфат-йонів, що з одного боку покращує фосфорний режим ґрунту, а з іншого – фізіологічний стан рослин. Питання покращення фосфорного живлення рослин може бути вирішене за рахунок застосування біопрепаратів фосфатмобілізувальних бактерій, інокуляції ними рослин. Метою нашої роботи було визначення впливу препаратів фосфатмобілізувальних бактерій на стан ліпід-пігментного комплексу фотосинтетичного апарату озимої пшениці за умов дефіциту доступних форм фосфору у ґрунті.

Передпосівну бактеризацію проводили шляхом обробки насіння озимої пшениці сорту Поліська 90 культуральною рідиною (мікробними препаратами) досліджуваних штамів бактерій у розрахунок 0,5 млн. клітин на насінину, а ефективність бактеризації вивчали у польовому досліді на базі Державного підприємства дослідного господарства Інституту сільськогосподарської мікробіології НААН України (м. Чернігів). Площа облікових ділянок складала 10 м², норма висіву 300 кг/га, попередник – вико-вівсяна суміш.

Дослідження впливу бактерій *Paenobacillus polymyxa* КВ, *Achromobacter album* 1122, *Rhizobium radiobacter* 1333 та *Rhizobium radiobacter* 5006 на стан пігментної системи показало, що передпосівна обробка насіння перешкоджає деструкції хлорофілів. Бактеризація рослин *Paenobacillus polymyxa* КВ сприяла накопиченню хлорофілів та каротиноїдів у листках на всіх досліджених фазах онтогенезу, тоді як інокуляція насіння *Rhizobium radiobacter* 1333 та *Rhizobium radiobacter* 5006 – лише у фазу цвітіння, а *Achromobacter album* 1122 – не викликала накопичення пігментів взагалі. При інокуляції рослин *Rhizobium radiobacter* 5006 була встановлена активація біосинтезу дигалактозилдіацилгліцеролу (ДГДГ) у мембранах фотосинтетичних тканин пшениці. За умов нестачі фосфору виявили зниження вмісту фосфатидилгліцеролу (ФГ) в фотосинтетичних мембранах рослин пшениці. Інокуляція насіння бактеріями *Achromobacter album* 1122 та *Rhizobium radiobacter* 1333 перешкоджала деструкції цього фосфоліпиду, що опосередковано може свідчити про підвищення рівня доступності розчинних форм фосфору в ризосфері рослин, інокульованих цими штамми бактерій. Виявлено зростання вмісту сульфохіноназилдіацилгліцеролу (СХДГ) у варіантах з *Achromobacter album* 1122 та *Paenobacillus polymyxa* КВ у фазу кущіння. Високий рівень СХДГ також зберігався протягом вегетації у фазу цвітіння при інокуляції зернівок *Paenobacillus polymyxa* КВ. Зменшення вмісту ФГ може компенсуватися стабільністю вмісту СХДГ для збереження аніонного характеру мембранних ліпідів та підтримання оптимального рівня перебігу фотосинтетичних процесів у хлоропластах за умов нестачі фосфору.

Отже, моделюючи вплив фосфатмобілізувальних бактерій у ризосфері інокульованих рослин пшениці сприяє процесу мінералізації низькомолекулярних органічних фосфатів ґрунту, поліпшує фосфорне живлення рослин, що відображається на складових ліпід-пігментного комплексу листків озимої пшениці.

ЕНЗИМАТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПЛАЗМИ КРОВІ КОРОПА ПРИ АДАПТАЦІЇ ДО УМОВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА ЗА АНТРОПОГЕННОГО ВПЛИВУ

ТУПИЦЬКА О. М., КУРБАТОВА І. М.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: olgatup@mail.ru*

Аналіз розміщення підприємств АПК у басейні малих, середніх та великих рік, ставів, озер та водосховищ показує, що потенційними джерелами забруднення довкілля, у тому числі і водних об'єктів, є не лише великі і малі тваринницькі комплекси, але й фермерські та індивідуальні селянські господарства. У зв'язку з інтенсивним товарним рибництвом, велике значення набувають біохімічні критерії оцінки якості продукції рибництва в умовах антропогенного впливу на водойми. Метою роботи було визначення токсичності забруднень стічних вод тваринницьких підприємств та вивчення активності ензимів плазми крові коропа, якого вирощували у ставах із підвищеним вмістом у воді забруднюючих сполук, що надходять зі стоками тваринницьких об'єктів.

Об'єктами дослідження з визначення якості води були обрані водойми, які знаходяться у зоні впливу тваринницьких об'єктів, розміщених на території Київської області, а саме: «ВАТ Забір'я» (дослід 1), «ЗАТ Антонов» с. Круглик (дослід 2), Немішаєвський агротехнічний коледж (дослід 3). Рибне господарство «ВАТ Забір'я» поблизу става тваринницьких ферм не мало, тому його взяли за базове (контрольне). Визначення основних показників якості води проводили за загальноприйнятими у гідрохімії методиками. Дослідження з вивчення особливостей обміну речовин у риб за дії стоків тваринницьких об'єктів проведені на дволітках коропа.

Проведений аналіз води рибогосподарських водойм, що знаходяться на території потенційних забруднювачів та сільськогосподарських підприємств, які спеціалізуються на виробництві продукції тваринництва, показав, що став «ЗАТ Антонов» с. Круглик та нагульний став Немішаєвського агротехнічного коледжу, які використовуються для рибогосподарських потреб, не відповідають вимогам існуючого ДСТУ і не придатні для вирощування риби, оскільки більшість хімічних речовин, що виявлені у підвищеній кількості у воді свідчать про потенційну небезпеку супутніх факторів. Вода става «ВАТ Забір'я» за гідрохімічними показниками відповідає вимогам ДСТУ і може використовуватися для вирощування риби.

Відомо, що висока концентрація органічних кислот, фенолів та інших речовин органічної природи, у тому числі аміак, гальмують реакції тканинного дихання і активують процеси анаеробного гліколізу в клітині, що призводить до збільшення рівня кінцевих продуктів розщеплення вуглеводів. Так, активність ЛДГ плазми крові риб підвищується на 19,8% (дослід 2) і на 55,5% (дослід 3) порівняно з контролем. Можливо, це пов'язано зі стимуляцією процесів глюконеогенезу в організмі риб як відповідь на високу концентрацію органічних кислот у воді акваріума. Підсилення глюконеогенезу, ймовірно, компенсує можливі зміни параметрів кислотно-лужного стану крові, оскільки цей процес є одним із основних механізмів, який запобігає зміщенню рН крові та інших біологічних рідин у кислий бік, так як за цих умов органічні кислоти поступово перетворюються на глюкозу.

На гальмування реакцій тканинного дихання у тканинах та крові риб вказує зниження активності лужної фосфатази (ЛФ) на 25,1% (дослід 2), 35,7% (дослід 3) порівняно з контролем. Така закономірність спостерігається при відповідному збільшенні рівня токсичних речовин у воді, що, можливо, пов'язано зі зниженням процесів гідролізу макроергічних сполук у тканинах риб.

**ВМІСТ ТА ЕЛЕМЕНТАРНИЙ СКЛАД МІНЕРАЛЬНИХ
РЕЧОВИН У ТКАНИНАХ ГІДРОБІОНТІВ***ТУПИЦЬКА О. М., ШАБАШ М. Л.**Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;**e-mail: olgatup@mail.ru*

Загальний вміст мінеральних речовин у тканинах гідробіонтів залежить від фізіологічного і анатомічного призначення тканин, а також від біохімічних особливостей виду. Рівень накопичення мінеральних речовин в однотипних тканинах непостійний і залежить від біохімічних особливостей виду. Наприклад, у м'язах костистих риб акумулюється помітно більше мінеральних речовин, ніж у м'язах хрящових, причому у морських видів, що мешкають у середовищі з вищим осмотичним тиском, вміст солей завжди вищий.

Серед костистих морських риб найбільш високий вміст мінеральних речовин виявлений у сухій речовині м'язів деяких видів камбалоподібних (до 16,6%), а найменший (до 6,8%) – у оселедцевих; у прісноводних костистих риб більше всього мінеральних речовин виявлено у сухій речовині м'язів коропових і сигових риб, що, очевидно, пов'язано з наявністю дрібних міжм'язових кісточок, відокремити які при підготовці матеріалу для аналізу неможливо. Істотно змінюється вміст мінеральних речовин у м'язах риб залежно від їх біологічного стану. Наприклад, у оселедця у період нересту вміст мінеральних речовин у сухій речовині м'язів коливається від 4,2 до 9,5%, а у жирного оселедця – від 3,0 до 6,5%. У тихоокеанських лососів вміст мінеральних речовин у сухій речовині м'язів помітно знижується, коли риби, що йдуть на нерест, входять у прісну воду. Відносний вміст солей у сухій речовині м'язів знаходиться у прямому зв'язку із вмістом води. Відмінності у загальному вмісті солей у сухій речовині м'язів морських і прісноводних видів пов'язані з особливостями процесу осморегуляції. У двостулкових молюсків (гребінець, мідія, устриці, мактра) у м'язах накопичується набагато більше мінеральних речовин, ніж у м'язах риб. Особливо високий вміст мінеральних речовин мають тканини мантиї, в якій продукуються мінеральні компоненти для побудови мушлі. Вміст мінеральних речовин у м'язах молюсків залежить від ряду причин біологічного характеру. Наприклад, у молодих мідій вміст мінеральних речовин у мантиї помітно вищий, ніж у старих. У мантиї гребінця у період відкладання ікри, вміст мінеральних речовин помітно зменшується, зате до осені (вересень) – різко збільшується, що пов'язано з інтенсифікацією процесу формування мушлі. Вміст мінеральних речовин у м'ясі ракоподібних (камчатський і синій краби, краб-стригун, декілька видів креветок) пов'язаний з біохімічними змінами крові у період линьки. Спочатку відбувається демінералізація старого панцира, а потім інтенсивний процес асиміляції і відкладання вапнякових солей у хітиновій основі нового панцира. Істотно змінюється і якісний склад мінеральних речовин залежно від роду тканин, виду гідробіонтів, а також від специфіки сольового складу прісної і морської води. Вміст у тканинах гідробіонтів деяких елементів може у сотні і навіть десятки тисяч разів перевищувати їх концентрацію у гідросфері, а вміст інших елементів може бути нижчим, ніж у гідросфері. Наприклад, у тканинах тіла морських риб відбувається виборча концентрація азоту, сірки, фосфору, кальцію, йоду і інших елементів, зате вміст хлору, магнію, натрію набагато нижчий, ніж у воді.

Гідробіонти, що мають сильно мінералізовані тканини, мають здатність акумулювати величезну кількість кальцію, кремнію (мшанки, вапнякові водорості, ракоподібні і т. п.). Якщо для риб біохімічно специфічним є накопичення у крові заліза, то у ракоподібних і молюсків у крові акумулюється мідь і т. д.

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД М'ЯЗІВ СТЕРЛЯДІ, ВИРОЩЕНОЇ В УМОВАХ РИБОВОДНОЇ РЕЦИРКУЛЯЦІЙНОЇ СИСТЕМИ

ХУДА Л. В., МАРЧЕНКО М. М., ХУДИЙ О. І.

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

У басейні верхнього Дністра збереглася одна з найпотужніших туводних популяцій стерляді (*Acipenser ruthenus* L.) в Східній Європі. Введення в аквакультуру дністровської стерляді, окрім важливого природоохоронного значення є перспективним з огляду на її високу харчову цінність. Важливою характеристикою, яка формує якість м'яса риб є його жирнокислотний склад. Метою роботи було проаналізувати вміст та співвідношення жирних кислот у м'язах цьоголіток дністровської стерляді, вирощених в умовах рециркуляційної системи Інституту біології, хімії та біоресурсів ЧНУ.

Вигодовування досліджуваних риб проводили продукційними гранульованими кормами Scretting, із вмістом 47% протеїнів та 14% ліпідів. Визначення жирних кислот проводили на базі Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України методом газової хроматографії на хроматографі HRGC 5300 (Італія). Скляна набивна колонка 3,5 м була заповнена Chromosorb W/HP, з нанесеною 10%-ою рідкою фазою Silar 5CP за програмованої температури 140–250 °C з наростанням 2 °C/хв. Ідентифікацію індивідуальних жирних кислот здійснювали за допомогою стандартів фірм Sigma та Serva, вміст виражали у відсотках від загальної маси жирних кислот.

Результати проведених досліджень показали, що за вмістом ліпідів у м'язах (13,5%) дністровська стерлядь відноситься до групи жирних риб, для яких частка ліпідів складає 8-15% (Байдалинова, Яржомбек, 2011). Натомість вміст холестеролу в м'язах цьоголіток, вирощених в умовах рециркуляційної системи із застосуванням кормів Scretting, складає 77,2 мг/100 г та узгоджується з даними інших авторів (Koricova, Vavgeinova, 2007).

У складі ліпідів м'язової тканини ідентифіковано 29 жирних кислот, з яких 33% від загальної маси жирних кислот складають насичені (НЖК), 39% – мононенасичені (МНЖК), 28% – поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК). Серед насичених зафіксовано наявність тринадцяти жирних кислот. Домінує пальмітинова кислота (21,8% від загальної маси всіх жирних кислот). Істотним є вміст міристинової, стеаринової та арахінової кислот (5,1; 2,0 та 1,4% відповідно), частка всіх інших кислот – менше 1%. Варто зазначити, що спектр насичених жирних кислот в м'язах досліджуваних риб починається з C11:0 (ундецилової) кислоти, тоді як іншими авторами в ліпідах стерляді вона не зафіксована, а жирнокислотний ряд розпочинається з C14:0 (Lee et al., 2012; Ljubojevic et al., 2013). Частка мононенасичених жирних кислот найвища, в основному, за рахунок олеїнової (26,3%) та пальмітоолеїнової кислот (9,3%). Поліненасичені жирні кислоти в м'язах стерляді основним чином представлені лінолевою (11,0%), ейкозапентаєновою (7,6%) та докозагексаєновою (6,4%) кислотами. Ключову роль у процесах життєдіяльності прісноводних риб відіграють ліолева та арахідонова кислоти. Вміст останньої у м'язах досліджуваних риб доволі низький (0,7%). Дефіцит лінолевої кислоти в раціоні прісноводних риб призводить до сповільнення росту та морфологічних змін шкіри. При цьому, в тканинах риб, так само як у ссавців, компенсаторно посилюється синтез ейкозатриєнової кислоти і використання її в синтезі тканинних ліпідів.

За результатами проведених досліджень у м'ясі дністровської стерляді співвідношення поліненасичених та насичених жирних кислот складає 0,85, що відповідає рекомендаціям WHO та FAO, згідно яких це співвідношення повинно бути більше 0,4. Однією з особливостей ліпідного складу тканин гідробіонтів є переважання вмісту ω -3 над ω -6 жирними кислотами. У м'язах досліджуваних риб загальний вміст ω -3 ПНЖК перевищує вміст ω -6 в 1,25 раз, що зумовлює високу харчову цінність стерляді серед прісноводних риб.

**ВПЛИВ КОРМОВОГО ОХРАТОКСИНУ А НА ВМІСТ
ОКРЕМИХ ФОСФОЛІПІДІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ПЕРЕПЕЛІВ***ЦВІЛІХОВСЬКИЙ В. І., МЕЛЬНИЧУК С. Д.**Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;**e-mail: tsv_val@ukr.net*

Охратоксин А (ОТА) синтезується пліснявими грибами роду *Aspergillus* і *Penicillium* у разі невідомого зберігання кормової сировини або уже готової продукції. ОТА викликає нефротоксичну, тератогенну, імунодепресивну дію на організм. Особливо небезпечний цей вид мікотоксинів для птиці та поросят. За даними всесвітнього дослідження рівень ОТА в кормах для птиці коливається від 17 до 197 мкг/кг. Такі ж дані були отримані нами за моніторингу кормів з тваринницьких господарств окремих північних регіонів України (Київська та Чернігівська області). Мікотоксини є джерелами вільних радикалів, що створюють окисний стрес і пошкоджують велику кількість клітинних структур. Збільшення вмісту фосфоліпідів у плазмі крові є одним із свідчень порушення механізмів структури клітин організму тварин і людини. Метою роботи було дослідити вміст окремих фосфоліпідів у плазмі крові перепелів за впливу кормового охратоксину А на організм птиці.

У досліді використовували самок перепелів породи Фараон віком 1 місяць. Птицю було поділено на дві групи: контрольну та дослідну. Перепелам контрольної групи згодовували комбікорм для дорослої дичини з фоновим вмістом ОТА 5 мкг/кг корму. Перепелам дослідної групи згодовували такий же комбікорм, але з додаванням стандартного зразка ОТА 120–150 мкг/кг. Комбікорм згодовували без зміни дози токсину та маси корму. Кров відбирали з підкрильцевої вени на 14-, 21-, 42- та 63-ю доби життя птиці. Плазму крові отримували після центрифугування при 500 g. Ліпіди екстрагували з плазми крові за методикою Blight E.I. and Dyer W.I. Розділення фосфоліпідів на фракції проводили двохвимірною тонкошаровою хроматографією на платівках Sorbfil (Росія) у системах хлороформ : метанол : бензол : 28% р-н амоніаку (65 : 35 : 10 : 6); хлороформ : метанол : бензол : ацетон : оцтова к-та : вода (70 : 30 : 10 : 4 : 5 : 1). Якісне визначення фосфоліпідів проводили за допомогою кольорових реакцій. Кількісний вміст фосфоліпідів визначали за фосфором неорганічним.

Встановлено, що в плазмі крові перепелів за впливу кормового ОТА вміст фосфоліпідів всіх фракцій змінюється. Так, кількісний вміст фосфатидилхоліну (ФХ), фосфатидилетаноламіну (ФЕ) та сфінгомієліну (СМ) в плазмі крові перепелів дослідної групи з 14-ї по 63-ю доби досліді вірогідно підвищується, тоді як вміст фосфатидилсерину (ФС) та фосфатидилінозитулу (ФІ) – знижується порівняно з контролем. Вміст ФХ у плазмі крові перепелів з 14-ї по 63-ю доби досліді підвищується до 2,5% порівняно з птицею контрольної групи, ФЕ – до 4% (21-а доба – 9%), СМ – до 8% (63-я доба – 7%), тоді як вміст ФС знижується до 20% (21-а доба – 28%), а ФІ – до 23% (21-а та 63-я доби – 29% та 25% відповідно).

Таким чином, найбільш істотні зміни фосфоліпідів плазми крові перепелів за дії кормового ОТА в дозі 120–150 мкг/кг корму відбуваються у фракціях ФС та ФІ, що може вказувати на ключову роль цих компонентів у захисті організму птиці від токсичного впливу мікотоксину.

ПРЕПАРАТИВНИЙ ЕЛЕКТРОФОРЕЗ ПРОТЕЇНІВ КАЗЕЇНОВОГО КОМПЛЕКСУ МОЛОКА

ЮКАЛО А. В.

*Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя, Україна;
e-mail: biotech@tu.edu.te.ua*

На сьогоднішній день досягнуто значний прогрес у вивченні будови і фізико-хімічних властивостей протеїнів казеїнового комплексу, з'ясовано їх фракційний склад і первинну структуру, є значні успіхи у встановленні просторової будови цього протеїну, запропоновано моделі казеїнових міцел, які дозволяють адекватно відобразити біохімічні перетворення казеїнів від їх синтезу до розщеплення під час травних процесів у шлунково-кишковому тракті. У роботах останніх років показано, що окрім основної функції – протеїнового живлення, казеїни здатні впливати на фізіологічні функції різних систем організму ссавців. Така регуляція може здійснюватися на рівні продуктів обмеженого протеолізу казеїнів, які утворюються у процесі нормального травлення у шлунково-кишковому тракті. Було відкрито більше ста різних біоактивних пептидів, які окремі автори відносять до природних харчових гормонів. Оскільки біологічно активні пептиди різної дії утворюються з різних фракцій казеїнового комплексу, то вивчення і використання цього явища тісно пов'язане з виділенням окремих фракцій казеїну. Виділення казеїнових фракцій ускладнюється подібністю їх властивостей та близькими значеннями молекулярних мас. Проте відомо, що в основу сучасної класифікації казеїнів покладено відмінності в електрофоретичній рухливості казеїнових фракцій у нейтральному і слабколужному середовищі. Це робить привабливим використання електрофореzu для фракціонування казеїну. У зв'язку із сказаним, метою даної роботи був підбір електрофоретичної системи і створення на її основі методики препаративного електрофореzu протеїнів казеїнового комплексу.

Було проведено порівняльний аналіз різних видів електрофоретичних систем, які раніше використовувались для аналізу протеїнів казеїнового комплексу молока (диск-електрофорез для нейтральних і кислих протеїнів у нативних умовах у поліакриламідному гелі, диск-електрофорез у градієнтному ПААГ, диск-електрофорез за наявності додецилсульфату натрію, електрофорез в однорідному ПААГ за наявності сечовини). Враховуючи ефективність розділення фракцій казеїнів, складність електрофоретичної системи, вплив компонентів системи на казеїни, нами було вибрано за основу для препаративного виділення казеїнових фракцій анодну систему однорідного ПААГ за присутності сечовини. Для створення препаративного варіанту були внесені необхідні зміни у склад електрофоретичної системи і будову апарата для електрофореzu. Також встановлено умови проведення електрофореzu, при яких скорочували тривалість процесу без суттєвого впливу на ступінь гомогенності отриманих фракцій. Гомогенність виділених протеїнів контролювали аналітичним електрофорезом із подальшою денситометрією електрофореграм. У результаті внесених змін вдалося скоротити в 1,5 раза тривалість електрофореzu і більш, ніж у 100 разів збільшити кількість протеїну у зразках, які використовувались для розділення.

У порівнянні з іншими методами виділення казеїнів, ця методика здійснюється за одну стадію, вигідно відрізняється простотою і доступністю. Враховуючи зростаючу цінність казеїнових фракцій, як попередників біоактивних природних інгредієнтів для функціональних продуктів, принцип електрофореzu може бути перспективним для препаративного фракціонування казеїнів не тільки в лабораторних умовах, але і в промислових масштабах.

ВИДІЛЕННЯ ГОМОГЕННИХ КАЗЕЇНОВИХ ФРАКЦІЙ*¹ЮКАЛО А. В., ²ЦІСАРИК О. Й.**¹Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя, Україна;**²Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, Україна;
e-mail: biotech@tu.edu.ua*

З'ясування механізмів біохімічних процесів, які відбуваються у молоці і молочних продуктах, передбачає використання гомогенних фракцій основного протеїну молока – казеїну. Казеїнові субстрати (загальний казеїн і його фракції) зокрема необхідні для наступних цілей: (1) дослідження здатності ензимів молокозсідних препаратів здійснювати «неспецифічний» протеоліз, який може призвести до утворення небажаних смакових пептидів і втрати протеїнів у процесі виробництва сичужних сирів; (2) встановлення специфічності ензимів протеолітичних систем молочнокислих бактерій, зокрема їх здатності до розщеплення окремих казеїнових фракцій без утворення гірких пептидів; (3) дослідження процесів утворення біологічно активних пептидів із протеїнів казеїнового комплексу (казоморфіни, казокініни, казоплателіни, імуномодуляторні пептиди, бактерицидні пептиди, казофосфопептиди) за дії ензимів травного тракту, а також протеаз молокозсідних препаратів і молочнокислих бактерій, які використовуються у виробництві молочних продуктів. У зв'язку із сказаним, метою нашої роботи є аналіз гомогенності існуючих препаратів казеїну та створення схеми комплексного фракціонування казеїну з виділенням високоочищених казеїнових фракцій.

У біохімічних дослідженнях використовують препарати загального казеїну по Гамарстену. Такий казеїн є субстратом у багатьох методиках для визначення загальної активності протеолітичних ензимів, а також активності фосфопротеїнказа. Виділення казеїну по Гамарстену супроводжується впливом багатьох денатуруючих факторів, які суттєво впливають на його структуру, склад і властивості. Електрофоретичний аналіз такого казеїну показав його відмінність у складі глікопротеїнів і міnorних фракцій α S2-казеїну у порівнянні з контрольним загальним казеїном. Як субстрат загального казеїну ми пропонуємо використовувати ліофілізований препарат нативних міцел казеїну, який виділяють повторним осадженням у системі «вода–кислий полісахарид–протеїни молока». Такий казеїн зберігає свою нативну структуру і склад. Проведений нами електрофоретичний аналіз препаратів основних фракцій казеїну (α S1-, α S2-, β -, κ -казеїни), які пропонує фірма Sigma показав наявність домішок. Препарат α S1-казеїну містить домішки α S2- і β -казеїнів, препарат β -казеїну містить домішки α S2- і κ -казеїнів, а препарат κ -казеїну – домішки β -казеїну. Нами на основі аналізу існуючих методик виділення казеїнових фракцій пропонується отримання високоочищених α S1- і β -казеїнів комбінацією диференційного осадження в ізоелектричній точці з двохстадійною гель-фільтрацією. Для виділення α S2-казеїну пропонується іонообмінна хроматографія в об'ємі на аніонообміннику. Аналіз гомогенності виділених фракцій аналітичним електрофорезом в анодній системі ПААГ з наступною денситометрією пластинок гелю показав, що вміст фракцій казеїну становить більше 95%. Необхідно також відзначити, що фракціонування проводилось без використання екстремальних значень рН, іонної сили і денатуруючих факторів.

ОТРИМАННЯ БІОАКТИВНИХ ФОСФОПЕПТИДІВ ІЗ КАЗЕЇНОВИХ ПОПЕРЕДНИКІВ ЗА ДІЇ ПРОТЕАЗ РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ

ЮКАЛО В. Г., СТОРОЖ Л. А.

*Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя, Україна;
e-mail: biotech@tu.edu.te.ua*

В останні роки було встановлено, що природні харчові протеїни – протеїни казеїнового комплексу молока окрім відомої біологічної цінності на рівні амінокислотного складу здатні за дії протеолітичних ензимів травного тракту утворювати низку біологічно активних пептидів. Ці пептиди є стійкими до дії травних протеаз, здатні проникати у кров'яне русло і проявляти свою біологічну дію. На сьогоднішній день із гідролізатів протеїнів казеїнового комплексу молока виділено пептиди, які здатні впливати на серцево-судинну систему (казокініни, казоплателіни), нервову систему (агоністи і антагоністи опіоїдних рецепторів), травну систему (глікомакропептиди, фосфопептиди), імунну систему (імуномодуляторні та антимикробні пептиди). В цілому до складу біоактивних пептидів входить близько 70% амінокислотних залишків із первинної структури протеїнів казеїнового комплексу молока. У зв'язку з цим, окремі автори розглядають протеїни казеїнового комплексу як цінне джерело для створення різних інгредієнтів функціональних продуктів. До найбільш перспективних функціональних інгредієнтів казеїнового походження відносяться фосфопептиди. Основною властивістю фосфопептидів є взаємодія з іонами металів (кальцію, заліза, цинку, магнію), утворення розчинних солей і поліпшення їх абсорбції у кишечнику. Як правило, фосфопептиди отримують протеолізом загального казеїну ензимними препаратами. Але відомо, що послідовності, які відповідають фосфопептидам, нерівномірно розподілені серед казеїнових фракцій (від 4,7% – у κ -казеїну, до 29,9% – у α S2-казеїну).

У зв'язку з цим, метою нашої роботи є підвищення виходу казеїнових фосфопептидів за рахунок використання фракцій казеїнів із високим вмістом фосфосеринових залишків (α S1-, α S2-, β -казеїни) або їх комбінацій. Було проведено дослідження виходу фосфопептидів за дії протеолітичних препаратів тваринного, рослинного і мікробіологічного походження (трипсину, хімотрипсину, панкреатину, папаїну та нейтральної протеази). Для протеолізу було використано три, виділені у нашій лабораторії, фосфопропротеїнові субстрати: загальний казеїн; суміш α S1- і α S2-казеїнів; β -казеїн. Встановлено, що найбільшу кількість фосфопептидів отримано при використанні (як субстрату) суміші α -S-казеїнів. Із ензимних препаратів найбільший вихід досягнуто за використання панкреатину і трипсину. Найменше фосфопептидів утворюється під час протеолізу β -казеїну.

Отримані результати свідчать про доцільність використання окремих фракцій (α S1-, α S2-казеїнів) або їх суміші при виділенні казеїнових фосфопептидів. Такий підхід дозволить раціонально використовувати казеїнові фракції для комплексного виділення різних біологічно активних пептидів. Також, на нашу думку, казеїнові фосфопептиди, утворені за дії трипсину або панкреатину, будуть подібні до природних, що може забезпечити їх ефективну біологічну дію.

VITAMIN D PROVISION IN HIGH-YIELD DAIRY COWS AND THEIR CALVES BY VARIOUS WAYS OF CHOLECALCIFEROL INJECTION

YUSKIV L. L.

*Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine;
e-mail: l_yuskiv@inenbiol.com.ua*

The data of literature and the results of our study indicated that in the last months of gestation and after calving in cows decrease blood levels of calcium, inorganic phosphorus, 25-hydroxycholecalciferol are presented. This is due to changes in their hormonal status, inter-organs rearrangement of both constructive and energetic substrates, vitamins and minerals. All that is dedicated to fetal growth, placenta and milk gland's functions. The aim of the study was to investigate the status of vitamin D in high-yielding cows and their calves by different ways of administration of vitamin D₃ to cows in the last days of gestation and after calving.

The vitamin D regardless of its source is transported by the blood to the liver where it hydroxylates of carbon 25. 25-OHD₃ - the main form of vitamin D₃, which circulates in the blood and is a precursor in the synthesis of other active metabolites. Therefore, the concentration of 25-hydroxyvitamin D in the blood of cows is a good indicator of status of vitamin D [Horst R. L. et al., 1994; Levchenko V. I. et al., 2004].

The performed research in highly productive cows during winter housing period was determined that the content of the 25-OHD₃ in their blood serum before administration of cholecalciferol (7-10 days before calving) was in the range 36-39 nmol/l. The administration of cholecalciferol performed in various modes is accompanied by increased levels of 25-hydroxyvitamin D in the blood of cows of experimental groups in comparison with cows from the control group during the whole period of studies. The oral supplementation of cholecalciferol in winter housing period to high-yield cows in the last days of gestation and after calving in a daily dose of 30 IU per 1 kg of body weight during the month starting at for 7-10th days before the predicted calving date, have caused that concentration of 25-OHD₃ in the blood serum of the cows from the 2nd on the 30th days after calving was higher by 26% compared with controls ($P < 0.05$). Parenteral injection of vitamin D₃: the first injection - 7-10 days before calving and later - three more times since 5-7 day after calving (each seven days, total dose - 210 IU per each kg of body weight for one injection) was accompanied by an increase of concentration 25-OHD₃ in the blood serum of the cows from the 3rd in 5-7th days after calving by 42%, and the 30th day after calving - 45% compared with controls ($P < 0.01$).

The research shows that the content of 25-OHD₃ in the blood serum of calves at 5-7th days after birth was lower, and the concentration of calcium and inorganic phosphorus - higher than in their mothers. The cows administration of cholecalciferol performed in various modes is accompanied by increased D-vitamin status of newborn calves. Thus, calves from cows 2th group had a higher concentration of 25-OHD₃ on the 30th day after birth by 25%, and calves from cows 3rd - 27% compared to calves of the control group ($P < 0.05$). At the 5-7th day after birth, these differences were less pronounced.

Along with the increase the level of 25-hydroxycholecalciferol in blood of calves of research groups have noted an increase in the concentration of calcium in total and also its fractions, inorganic phosphorus and magnesium content together with decline of alkaline phosphatase activity compared to calves from the control group cows. Significant differences noted at the end of the experiment.

Thus, the cholecalciferol administration in the high-yield dairy cows during winter housing period in the last days of pregnancy and after calving increases its active metabolites' content, while the latter depends upon both the mode of administration and physiological state of the animals. The calves born from cows that in the last days of gestation and after calving cholecalciferol administered in various ways, characterized by higher blood levels of 25-OHD₃, calcium, inorganic phosphorus, magnesium and together with decline of alkaline phosphatase activity compared to calves from the control group cows.

ЗМІНИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПІДІВ ТКАНИН ЗА ЕМБРІОНАЛЬНОГО РОЗВИТКУ ГУСЕЙ

ЯРОШ А. С., НИКОЛАСВА Ю. В., ГОРБАЧ Н. І., ДАНЧЕНКО О. О.

*Мелітопольський державний педагогічний університет
імені Богдана Хмельницького, Україна;
e-mail: danchenko.ea@mail.ru*

Властива для гусей висока інтенсивність метаболізму, великий вміст ліпідів та їх значна ненасиченість зумовлюють підвищену чутливість цієї птиці до порушення про-/антиоксидантної рівноваги (ПОЛ \leftrightarrow АОА). З'ясування механізмів адаптації гусей до негативних чинників різної природи сприятиме ефективнішому усуненню цього впливу. Раніше встановлено, що в печінці, скелетних м'язах і м'язовому шлунку гусей підтримка рівноваги ПОЛ \leftrightarrow АОА відбувається шляхом активізації антиоксидантних ензимів і вітамінів. Доведено, що збільшення ефективності функціонування системи антиоксидантного захисту (АОЗ) тканин мозку і печінки цієї птиці відбувається за рахунок підвищення узгодженості показників рівноваги ПОЛ \leftrightarrow АОА. Втім, головною мішенню в процесах ліпопероксидації (ПОЛ) є ненасичені жирні кислоти (НЖК), а інтенсифікація процесів ПОЛ під час адаптації тварин до умов навколишнього середовища може розглядатися, як один з механізмів, що забезпечують спрямовані на підтримку оптимального фазового стану зміни жирнокислотного складу (ЖКС) ліпідів. Метою роботи було з'ясування тканинної специфічності змін ЖКС ліпідів гусей італійської породи в умовах переходу від гіпоксії кінця ембріонального періоду до гіпероксії початку атмосферного дихання.

ЖКС визначали методом газорідинної хроматографії в тканинах мозку, печінки, серця і скелетних м'язів 15-, 22-, 28-добових ембріонів та 1-добових гусенят італійської породи. Ненасиченість жирних кислот (ЖК) рахували як суму молярних концентрацій еквівалентів окремих НЖК відносно подвійних зв'язків. Саме цей показник віддзеркалює здатність тканин до ПОЛ і є індексом окислюваності тканинних ліпідів.

Результатами експерименту доведено, що зміни ЖКС тканин печінки в другій половині ембріонального періоду спрямовані на зниження рівня ненасиченості ЖК: у 28-добових ембріонів рівень ненасиченості ЖК ліпідів печінки на 22,6% ($P \leq 0,05$) нижчий за відповідний вихідний показник. Зміни ЖКС ліпідів серця в цей період також спрямовані на зниження рівня ненасиченості ЖК: у добових гусенят рівень ненасиченості ЖК ліпідів міокарду на 10,2% ($P \leq 0,01$) нижчий за відповідний вихідний показник. Для скелетних м'язів ненасиченість ЖК ліпідів є ще більш сталим показником, ніж для тканин серця: упродовж дослідження зміни ненасиченості ЖК скелетних м'язів коливались в межах статистичної похибки. У тканинах мозку перехід до постнатального розвитку супроводжується зниженням ненасиченості ЖК на 35,2% ($P \leq 0,01$), головним чином, за рахунок зменшення вмісту поліненасичених ЖК. Зниження ненасиченості ліпідів мозку наприкінці ембріогенезу є генетично запрограмованою підготовкою організму ембріонів до умов постнатального існування. Підвищення рівня споживання кисню на тлі зниженої активності компонентів системи АОЗ свідчить, що підтримка рівноваги ПОЛ \leftrightarrow АОА в тканинах мозку гусей, під час переходу до постнатального розвитку, відбувається за рахунок зниження ненасиченості ЖК ліпідів цих тканин, а, можливо, й просторової модифікації ліпідного бішару клітинних мембран.

Отже, зниження рівня ненасиченості ЖК ліпідів під час постнатальної адаптації гусенят спадає в напрямку: мозок – печінка – серце – скелетні м'язи. Чим вищий рівень споживання кисню тканинами, тим більшого значення набуває регуляція ПОЛ шляхом запуску нейрогуморальних механізмів, які знижують ненасиченість жирних кислот ліпідів і, таким чином, суттєво підвищують резистентність клітин до пошкоджуючого впливу активних форм кисню.

**VI. ВИКЛАДАННЯ БІОХІМІЇ
ТА СУМІЖНИХ ДИСЦИПЛІН
І ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ
ФАХОВОЇ ПІДГОТОВКИ
МОЛОДИХ УЧЕНИХ. ІСТОРІЯ
БІОХІМІЧНОЇ НАУКИ**

ДОПОВІДІ**ІВАН ЯКОВИЧ ГОРБАЧЕВСЬКИЙ – ВЧЕНИЙ,
ПАТРІОТ І ГРОМАДЯНИН***ВИНОГРАДОВА Р. П., ДАНИЛОВА В. М.**Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: valdan@biochem.kiev.ua*

Іван Якович Горбачевський (15.05.1854 – 24.05.1942) – доктор медичних наук, професор, декан медичного факультету Карлового університету в Празі, ректор цього університету, член Санітарної Ради Чеського Королівства, Найвищої Ради здоров'я Австро – Угорщини у Відні, довічний член палати Панів Австрійського Парламенту, дійсний таємний радник Імператора, перший міністр здоров'я Австро–Угорщини, ректор Українського Вільного Університету у Відні й Празі, почесний член Наукового товариства ім. Шевченка у Львові та лікарських товариств Вільнюса, Кракова, Відня, Чеської Королівської академії наук, дійсний член Академії наук УРСР, нагороджений орденом Залізної корони Австро – Угорщини, відомий невтомний громадський діяч і великий патріот України.

Народився вчений медик в с. Зарубинці Збаразького району Тернопільської області у родині греко-католицького священика. Від 1872 до 1877 рр. навчався на медичному факультеті Віденського університету, де студентом 2-го курсу виконав першу наукову роботу «Про вестибулярний нерв». Після закінчення інституту і здобуття наукового ступеня доктора медицини (1877 р.) працював в Інституті медичної хімії Віденського університету, де виконав низку наукових праць, присвячених перетравленню протеїнів, а у 1882 р. здійснив синтез сечової кислоти із сечовини і гліцину, що принесло йому світову славу.

Від 1883 р. до 1917 р. І. Я. Горбачевський працював у Празькому Чеському університеті, в якому на лікарському факультеті створив науковий інститут фізіологічної (біологічної) хімії, де вів велику наукову роботу. Саме тут він удосконалював синтез сечової кислоти, синтезував креатин (1895–1896 рр.), виявив ензим ксантиноксидозу (1889 р.), досліджував подагру і встановив, що сечова кислота утворюється завдяки окисненню ксантинових основ, вихідним матеріалом для яких є нуклеїнові кислоти з ядер лімфоцитів (1890–1898 рр.). Як член Крайової санітарної ради Чеського Королівства він багато зробив для встановлення санітарних норм питної води для Праги. Починаючи з 1909 р., І. Я. Горбачевський зосередив свої дослідження на вивченні речовин, які згодом отримали назву вітаміни. Досліджуючи етіологію пелагри, він одержав нові дані про роль вітаміну РР (нікотинової кислоти) в організмі людини.

І. Я. Горбачевський – автор 66 наукових публікацій з біохімії, хімії, епідеміології, токсикології, судової медицини та інших галузей, понад 100 наукових опрацювань у галузі санітарії, багато з яких було впроваджено. Майже 50 років І. Я. Горбачевський віддав педагогічній діяльності: 35 років працював у Празькому Карловому університеті, пізніше в Українському вільному університеті, Українському педінституті ім. М. Драгоманова й Українській господарській академії (Чехія). Видав 4-х томний підручник з неорганічної, органічної і фізіологічної хімії чеською мовою й підручник «Неорганічна хімія» українською. Працював над створенням української хімічної термінології.

З часу навчання у гімназії до кінця життя за межами України (67 років з 88) І. Я. Горбачевський був щирим і свідомим патріот своєї Батьківщини брав активну участь у роботі українських громадських організацій, активно прилучився до створення «Музею визвольної боротьби України» у Празі.

Рішенням Кабінету Міністрів України (1992 р.) іменем І. Я. Горбачевського найменована Тернопільська національна медична академія і школа в селі Зарубинці (Тернопільська область).

Науковці незалежної України, до якої прагнув професор І. Я. Горбачевський, віддають належну шану титану праці, великому патріоту України, подвижнику науки.

**МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ В СИСТЕМІ
МІЖДИСЦИПЛІНАРНОЇ ІНТЕГРАЦІЇ У ВИЩИХ
МЕДИЧНИХ ЗАКЛАДАХ ОСВІТИ**

ВОРОБЕЦЬ З. Д., ЧУПАШКО О. Я.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua*

Реалізація системою вищої медичної освіти України інноваційної моделі у рамках Болонського процесу передбачає розвиток фундаментальної науки, оскільки першим критерієм інтегральної здатності до вирішення складних, нестандартних завдань є знання багатьох предметних галузей. Сьогодення вимагає формування лікаря загальної практики, що здатний до самостійного клінічного мислення, яке формується на основі вивченого матеріалу з використанням даних багатьох ланок фундаментальної науки. Важливою передумовою досягнення фаховості, високого кваліфікаційного рівня майбутнього лікаря є розуміння ним глибинних механізмів етіології і патогенезу захворювань людини.

Стрімкий розвиток медицини супроводжується величезним потоком нової інформації й обумовлений зростаючими запитами суспільства до охорони здоров'я. Серед широкого кола медико-біологічних дисциплін, що сприяють оволодінню компетенціями, необхідними для майбутнього лікаря, формують його науковий світогляд, чільне місце посідає молекулярна біологія. Актуальність цієї дисципліни зросла в останні 15–20 років завдяки майже революційним відкриттям у галузі клонування організмів, вивчення молекулярних основ еволюції, біорізноманітності, розвитку і старіння, канцерогенезу, імунітету тощо. Усвідомлення природи явищ, що відбуваються у живому організмі, неможливе без використання досягнень молекулярної біології та генетики, без даних про ультраструктури, в яких зосереджений перебіг процесів живого організму. Лише такий підхід дозволить створити цілісну картину кожної функції з усвідомленням місця і ролі біохімічних процесів в ультраструктурах клітин організму.

Сучасні уявлення про будову основних біомолекул і надмолекулярних комплексів, їх участь в молекулярних основах життєдіяльності клітини за умов норми і патології, вивчення організації геномів неклітинних і клітинних організмів, молекулярних основ спадковості, механізмів генних, хромосомних і геномних мутацій, питань регуляції клітинного циклу, генетичних механізмів канцерогенезу, клонування організмів і клітин є передумовою для розуміння ходу подій від норми до патології, в низці яких наступний крок – клініка. Оволодіння методами ДНК-діагностики, генної інженерії дає можливість студентам зрозуміти зв'язок між молекулярною будовою гену та його експресією, значення процесів реплікації, рекомбінації та репарації ДНК в організмі людини в нормі та при патології, засвоїти особливості організації генома людини. У подальшому навчанні використання молекулярно-генетичних підходів корисне для багатьох галузей біохімії, фізіології, імунології, клінічної медицини, адже ключ до кожної біологічної проблеми слід шукати у клітині. Ще понад 150 років тому видатний вчений-біолог, один із творців клітинної теорії Вірхов писав, що «всі хвороби зводяться до активних чи пасивних порушень у клітинах».

Таким чином, обґрунтування значення вивчення молекулярної біології у подальшому застосуванні цих знань на теоретичних кафедрах медико-біологічного і клінічного профілю забезпечить високий рівень мотивації студентів до сприйняття, осмислення, вивчення предмету і подальшого використання у професійній лікарській практиці.

РІВЕНЬ ОБІЗНАНОСТІ ВИКЛАДАЧІВ ВИЩИХ НАВЧАЛЬНИХ ЗАКЛАДІВ УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ

ГЕРГАЛОВА Г. Л., МАКСИМОВИЧ Я. С., КОМІСАРЕНКО С. В.

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: fanik2011@yahoo.com*

Зараз ми з вами є свідками безпрецедентного бурхливого прогресу в сучасній біології. Її досягнення відкривають практично неосяжні можливості для використання в медицині, сільському господарстві, промисловості та для охорони навколишнього середовища. Разом із тим, досягнення біологічних наук, зокрема синтетичної та системної біології, що мають бути використані на благо суспільства, можуть нанести людству, окремим країнам чи особам шкоду в разі їх ненавмисного чи навмисного неналежного використання.

Тому одним із основних викликів для міжнародної наукової спільноти є пошук шляхів підвищення рівня усвідомлення науковцями, які працюють у сфері біологічних наук, соціальної відповідальності за потенційно небезпечне використання результатів їх досліджень.

Метою даної роботи був збір інформації про стан освіти та нинішній рівень обізнаності викладачів університетів України з питаннями біобезпеки та біозахисту. Для отримання даних проводилося анкетування з використанням спеціально розробленого опитувальника. Було опитано 51 представника 26 вищих навчальних закладів та академічних установ України. Результати опитування свідчать про відносно високий рівень обізнаності респондентів у сфері біобезпеки та біозахисту, зокрема про поінформованість щодо національних та міжнародних нормативних документів, що забороняють можливе небезпечне використання результатів наукових досліджень, та про міжнародні й національні організації, діяльність яких присвячена біобезпеці. Таку обізнаність опитаних можна пояснити тим, що більшість з них попередньо брала участь у роботі наукових семінарів, проведених в Україні і присвячених біобезпеці та біозахисту. Більшість респондентів зазначили, що в їх навчальних закладах викладаються навчальні модулі, присвячені питанням біобезпеки та біозахисту, а проблеми «подвійного використання» здебільшого розглядаються в межах нормативного курсу з біоетики, що є обов'язковим для студентів біологічних та медичних напрямів підготовки. У той же час, респонденти вважають, що в Україні рівень наявних ресурсів, які використовуються для навчання в сфері біобезпеки, є недостатнім. Викладачі, які брали участь в опитуванні, зазначили необхідність вдосконалення існуючих навчальних програм у даній сфері. Одним із шляхів подолання даної проблеми є розробка методичних рекомендацій з біобезпеки, біозахисту та проблем «подвійного використання» та ефективно і широко їх впровадження у навчальний процес.

ІСТОРІЯ ВІТЧИЗНЯНОЇ БІОХІМІЇ

КАЛИМАН П. А.

*Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, Україна;
e-mail: pavel.a.kaliman@univer.kharkov.ua*

Засновником вітчизняної біохімії по праву вважається О. Я. Данилевський (1838–1923), харків'янин, вихованець Харківського університету. Його наукові праці відносяться головним чином до вивчення фізіології нервової системи і хімізму травлення.

Великий внесок в Українську біохімію вніс І. Я. Горбачевський (1854–1942). Він вперше в світі здійснив синтез сечової кислоти з гліцину. В подальшому він встановив джерело та шляхи її утворення в організмі людини та тварин. У 1923 р. І. Я. Горбачевський опублікував роботу, присвячену питанню української хімічної термінології. З 1883 по 1917 р. був професором кафедри фармакології

Карлового університету в Празі. Став засновником і першим директором Інституту медичної хімії та біології при університеті. Горбачевський чотири рази переобирався деканом медичного факультету, а з 1902 по 1903 р. був ректором Карлового університету.

О. В. Палладін (1885-1972), засновник української школи біохіміків, великий внесок вніс у вивчення біохімії вітамінів і м'язів. Особливе значення мають його роботи по біохімії нервової системи. Але найважливішим його досягненням було вчення про біохімію нервової системи.

М. Ф. Гулий (1905–2007). Від 1932 року – в Інституті біохімії НАНУ (Київ): 1950–1988 – завідуючий відділу біосинтезу і біологічних властивостей білка, 1972–1977 – директор, від 1988 – радник при дирекції; водночас 1944–1971 – завідуючий кафедри біохімії Української сільськогосподарської академії (Київ). Був президентом Українського біохімічного товариства (1976–1987; від 1992 – його почесний президент). Результати цих робіт лягли в основу створення нових ліків, що знайшли застосування у гематологічних, хірургічних та наркологічних клініках, а також низки препаратів для підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин.

І. М. Буланкін (1901–1960). Відомий роботами в галузі хімії протеїнів, вікової і порівняльної біохімії. Він займався також питаннями старіння колоїдів, біосинтезу і обміну протеїнів і нуклеїнових кислот. І. М. Буланкін, разом з О. В. Нагорним заснували Харківську школу онтобіохіміків і онтофізіологів, яка працює і по теперішній час.

БІОХІМІЧНА ОСВІТА В УКРАЇНІ: ВИКЛИКИ ЧАСУ

ЛУЩАК В. І.

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника,
Івано-Франківськ, Україна;
e-mail: lushchak@pu.if.ua*

На даному етапі розвитку України маємо досить проблем із підготовкою біохіміків. Тут я виділив би три основні складові: (1) суспільний попит на фахівців-біохіміків; (2) теоретична підготовка і (3) практична підготовка. Вища освіта чітко віддзеркалює стан нашого суспільства – експлуатаційний підхід до промисловості і практично повна відсутність інноваційної складової. Це призвело до мінімізації потреби у фахівцях фундаментальних наук. Хоча певний попит у біохіміках існує в кількох напрямках, зокрема у виробництві (харчова промисловість, біотехнологія) і лікувально-профілактичному (особливо діагностичні лабораторії). Проте, ці галузі не вимагають фахівців дуже високого класу – потенційно тут могли б успішно працювати навіть бакалаври біохімії. А ось стосовно фахівців-біохіміків високого класу – маємо дуже серйозні проблеми. Реально склалась така ситуація, що вони в Україні практично не потрібні. А таку позицію визначають два моменти: практично неконкурентні заробітні плати і відсутність реального фінансування науки як у Національній академії наук України, так і в наших вищих навчальних закладах. Тому, більшість молоді, яка має мінімальний рівень знань і навичок, а також можливість, виїжджає за кордон. Так, що ж необхідно зробити, щоб виправити ситуацію у царині підготовки українських біохіміків?

Найперше – суспільний запит. Чи можемо ми впливати на нього? Не дуже сильно, але все-таки певні зусилля треба докладати – просто у політичному житті, виступати в пресі, на телебаченні та інших засобах масової інформації. Свою необхідність для суспільства треба обґрунтовувати, наводячи приклади з інших країн, де біохімія є не тільки фундаментальною, а й виробничою і технологічною. Саме вона займає центральну позицію у сучасній системі охорони здоров'я, профілактики і лікування хвороб.

Проте, для того щоб наші біохіміки стали більш потрібними суспільству, як на мене, систему їхньої підготовки треба дещо вдосконалити. Так, у нас готують бакалаврів-біологів чотири роки. По суті без спеціалізації. Це не відповідає світовій практиці, де бакалаврів готують три роки. Що – наші біологи (я вже не кажу про біохіміків) кращі фахівці, аніж такі за кордоном? Зовсім ні! Так у чому ж тоді

проблема, чому додатковий рік не додає до рівня підготовки? А суть проблеми в тому, що у нас існує великий (25–30%) блок нефахових дисциплін, які відсутні у закордонних ВНЗ. Ось і резерв часу в один рік з чотирьох і до того ж істотна економія ресурсів. З іншого боку – підготовка магістрів повинна тривати два роки, бо це вже по суті науковий ступінь. Знову ж, для того, щоб наші біохіміки могли конкурувати на світовому ринку праці необхідно підвищити їх фахову підготовку – теоретичну і особливо практичну складову. Теоретична складова може знову ж бути підсилена за рахунок перерозподілу часу викладання різних біологічних дисциплін. Так, немає необхідності біохімікам вивчати зоологію і ботаніку протягом двох років – світова практика показує, що вистачає і одного року. Необхідно створити сучасну навчально-експериментальну базу, а то, наскільки мені відомо, у більшості випадків студентів навіть не вчать проводити електрофорез чи хроматографію. І ще одним аспектом підготовки сучасних біохіміків не можна нехтувати – фаховою англійською мовою. Але викладанням цього предмету треба покласти не на гуманітаріїв, а фахівців-біохіміків, які певний час працювали за кордоном і мають практичний досвід аналізу англійськомовної літератури, живого спілкування і написання статей англійською мовою. Для реалізації цих ідей варто створити при МОН України постійно діючу робочу групу з біохімічної освіти, куди ввійшли б завідувачі кафедр біохімії університетів, представники МОН і кілька біохіміків з міжнародним визнанням.

ЮНАЦЬКА СЕКЦІЯ УКРАЇНСЬКОГО БІОХІМІЧНОГО ТОВАРИСТВА ЯК ФОРМА ВИХОВАННЯ МОЛОДИХ НАУКОВЦІВ

НАЗАРЕНКО В. І.

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

Надзвичайно важливу роль в організації освітнього процесу відіграють заходи, спрямовані на пропаганду досягнень науки і техніки серед учнівської молоді, поширення її світогляду, залучення до науково-дослідницької діяльності талановитого, обдарованого юнацтва. Початкова підготовка наукової зміни починається з таких форм масової навчально-виховної діяльності регіонального, державного, міжнародного рівнів, як: конкурси-захисти учнівських експериментальних робіт, виставки, конференції, експедиції, молодіжні наукові форуми тощо. Участь у них дає вагомий позитивні результати, головними з яких є: поглиблене вивчення певної дисципліни, ознайомлення з існуючими проблемами, завданнями та досягненнями в конкретній науковій галузі, опанування сучасними методами дослідження, тобто здійснення першого кроку до творчої дослідницької діяльності – «випробовування себе наукою». Високий науково-методичний рівень забезпечується залученням до цього процесу як позашкільних державних навчально-виховних установ, так і вчених, науковців та фахівців академічних інститутів, вищих навчальних закладів, профільних наукових установ, які здійснюють свою плідну, суспільно корисну діяльність здебільшого на громадських засадах - керують гуртками, секціями юних науковців, складають рекомендовану тематику реферативних та експериментальних дослідницьких робіт, здійснюють науково-методичне забезпечення виховного процесу.

Понад 25 років до структури Українського біохімічного товариства входить Юнацька секція (ЮС УБТ), при якій діє громадська науково-освітня організація «Університет юних біохіміків» (УЮБ) з лекторієм «Передові рубежі біології» (науково-популярні лекції з актуальних питань біохімії, фізико-хімічної біології, медицини, біотехнології). Слухачами УЮБ є переважно школярі старших класів та студенти, а його викладачами – науковці Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, інших академічних інститутів та університетів. Зокрема лекційні заняття вели такі відомі вчені, як: академіки – Я. Б. Блюм, І. Д. Войтович, С. В. Комісаренко (ректор УЮБ), В. І. Монченко, В. С. Підгорський; чл.-кор. НАН України – Н. М. Гула, А. Л. Бойко, О. І. Корнелюк, Б. П. Мацелюх, І. Г. Скрипаль, І. С. Чекман; професори – Н. М. Білько, М. М. Великий, С. В. Дзядевич, О. П. Демченко,

О. П. Матишевська, О. А. Машков та ін. Інформація про лекційні семінари щомісяця висвітлюється в Інтернеті на сайті Київської МАН. Школярі і студенти, які виконали експериментальні, пошукові, науково-дослідницькі роботи в рамках ЮС УБТ, стають учасниками і призерами регіональних, загальнодержавних та міжнародних конкурсів науково-технічної творчості юнацтва, в тому числі і профільних, таких, як: «Всеукраїнський конкурс учнів та студентів «Мирний космос», «Міжнародний екологічний форум «Довкілля для України», Всеукраїнський конкурс науково-дослідницьких, винахідницьких та раціоналізаторських розробок, Всеукраїнський конкурс науково-експериментальних робіт членів МАН України, Національний етап Міжнародного конкурсу Intel-ISEF, Всеукраїнський форум учнівської та студентської молоді «Дотик природи» та ін. Вихованці Юнацької секції УБТ неодноразово виборювали призові місця у міжнародних конкурсах юнацької наукової творчості в Китаї, США, Канаді, Туреччині, Латвії, Німеччині, Російській Федерації, Естонії.

На базі Інституту біохімії як осередок пропаганди і розповсюдження біохімічних знань, досягнень і внеску вітчизняних вчених до світової біохімічної науки серед учнівської молоді діє Меморіальний музей академіка О. В. Палладіна, який фактично виконує функцію науково-методичного та інформаційно-аналітичного центру регіональних та міжнародних науково-освітніх програм медико-біологічного та екологічного напрямку Київської МАН.

ТРАНСЛЯЦІЙНА МЕДИЦИНА В ОСВІТЯНСЬКОМУ ПРОЦЕСІ: УСПІХИ ТА ПРОБЛЕМИ

ЧЕХУН В. Ф.

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;
e-mail: chekhun@onconet.kiev.ua*

Інтенсивні дослідження в галузі біохімії, геноміки, протеоміки, молекулярних і клітинних основ патогенезу численних хвороб, визначення нових маркерів і мішеней впливу та конструювання нових лікарських форм привело до накопичення значного арсеналу знань. Однак, зростаючі темпи розвитку фундаментальної науки та інформаційних технологій збільшують дистанцію між пропозицією та потребами сучасного ринку медичних послуг.

Ключовим фактором у подоланні зазначеної проблеми може виявитись застосування елементів трансляційної медицини в освітянському процесі. Глибока кооперація дослідників та викладачів має оптимізувати передачу сучасних знань студенту з метою своєчасного їх застосування для пошуку ефективних методів діагностики, оцінки клінічної інформації та адекватних засобів персоналізованої терапії.

Своєчасне оволодіння ефективними технологіями біомедичних досліджень, в тому числі за рахунок міждисциплінарних підходів, менеджменту знань, застосування інформаційних технологій та модернізації інфраструктури дослідницьких, педагогічних та медичних колективів може бути запорукою успіху. Такий формат міжвідомчої співпраці поряд з пошуком нових маркерів та мішеней впливу дозволить ефективно впроваджувати елементи системної біології в персоналізовану медицину XXI ст.

Таким чином, формування сучасного, конкурентоздатного фахівця для медико-біологічної галузі вимагає не тільки тривалої, але й інтенсивної підготовки студента на засадах глибоких теоретичних знань, застосування сучасних механізмів самопідготовки та необхідних практичних навичок.

СТЕНДОВІ ПОВІДОМЛЕННЯ

К ВОПРОСУ О ПУТЯХ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ НА КАФЕДРЕ БИОХИМИИ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗГМУ

*АЛЕКСАНДРОВА Е. В., КРИСАНОВА Н. В., РУДЬКО Н. П.,
БЕЛОКОНЬ Л. Е., ЮРЧЕНКО Д. Н., ЛЕВИЧ С. В.*

*Запорожский государственный медицинский университет, Украина;
e-mail: aleksandrovaev55@gmail.com*

Для высшей медицинской школы Украины на данный момент первоочередной становится проблема воспроизводства кадрового потенциала, сохранения преемственности поколений, совершенствования подготовки и аттестации специалистов высшей квалификации. Как известно, основной формой подготовки нового поколения преподавателей, институтом, обеспечивающим своего рода «сопряжение» между высшим образованием и исследованиями является аспирантура. Именно поэтому университеты, признавая вызовы времени, уделяют все больше внимания развитию и совершенствованию аспирантских программ. Облик аспиранта сегодня существенно отличается от того, каким он был в прошлом, когда в аспирантуру поступал человек, как правило, глубоко заинтересованный научной работой, стремящийся связать свое будущее с наукой или преподаванием. Сейчас многие современные соискатели ученой степени пытаются таким образом расширить возможности собственного трудоустройства, поскольку наличие высшего образования представляется им недостаточным для карьерного роста в условиях современного рынка интеллектуального труда. Современный соискатель ученой степени в области биохимии должен быть с высоким уровнем академической подготовки, эрудиции, знать иностранные языки, иметь опыт работы в исследовательской группе. Он должен быть узнаваем в научной среде, иметь контакты в научном сообществе, иметь навыки написания конкурсных заявок, заявок на гранты, а также владеть умением презентации результатов исследований и разработок. Модернизация национальной системы послевузовского профессионального образования, интеграция в европейское образовательное пространство в рамках Болонского процесса предполагают четкое определение целей аспирантской подготовки, среди которых важнейшей становится подготовка специалистов, конкурентоспособных на современном рынке интеллектуального труда, обладающих навыками исследовательской и аналитической работы, способных гибко и результативно реагировать на вызовы быстро меняющегося мира. Коллектив кафедры биохимии и лабораторной диагностики ЗГМУ успешно работает по подготовке молодых ученых-преподавателей: за последние четыре года под руководством профессором Александровой Е. В., Романенко Н. И. успешно защитились восемь аспирантов и соискателей, которые остались в стенах родной альма-матер в качестве преподавателей кафедры и продолжают активно заниматься научно-исследовательской работой. Молодое поколение кафедры владеет широким арсеналом современных методов исследований, включающий методы докинга по моделированию связывания веществ-лигандов с рецепторами, методы расчета физико-химических параметров веществ и вероятности их взаимодействия со структурными компонентами клетки с использованием пакета программ Acceryl, E-Dragon, AutoDock Vina.

По нашему мнению, для омоложения и обновления кадров медицинского учебного заведения следует иметь специальную программу поддержки научной активности студентов, молодых исследователей и преподавателей. В этой программе планомерно должна быть увеличена роль участия студентов в прикладных исследованиях, которые дают возможность: освоить способы отраслевых технологий; «увидеть» свою будущую профессиональную деятельность в динамике, осмыслить значимость освоения фундаментальных знаний; получить опыт интенсивной практической работы;

уточнить направление своей будущей профессиональной деятельности, профиль получаемого образования; более осмысленно, целенаправленно и мотивированно работать с информацией.

АПРІОРНА МОТИВАЦІЯ У ВИКЛАДАННІ ХІМІЧНИХ НАУК У ВИЩИХ НАВЧАЛЬНИХ МЕДИЧНИХ ЗАКЛАДАХ

¹БОГАТИРЬОВА О. В., ²СХАЛОВ В. В., ²БРАЗЛУК О. З.,
²ЛЯЩЕНКО О. В., ³ЛАВРИЦЄВ О. Д., ³ВОЛКОВА Н. О.

¹Донецький національний медичний університет
імені Максима Горького, Україна;

²ДУ «Дніпропетровська медична академія» МОЗ України;

³КЗ «Шоста міська клінічна лікарня» ДОР, Дніпропетровськ, Україна;
e-mail: xelgoleg@i.ua

Професійна характеристика лікаря-анестезіолога передбачає розуміння патогенезу клінічних станів та дії лікувальних методів на глибокому біохімічному рівні. Студенти ретельно вивчають хімічні науки на початкових курсах, проте через певний час на клінічних кафедрах вони виявляють якщо не повну неспроможність, то, найменш, серйозний дефіцит теоретичних знань в галузі базових наук. Враховуючи це, їм треба знову оволодівати тими самими навчальними розділами в ключі клінічного переосмислювання. Формальна відокремленість споріднених дисциплін в учбових планах, недостатнє використання міжпредметних зв'язків в навчальному процесі призводять до ситуації, коли синтез наданої інформації стихійно покладається на самих студентів-медиків. Навіть якщо вони спмагаються це зробити, то результат здебільшого буває незначним. Це, звісно, не сприяє цілеспрямованому формуванню майбутніми лікарями цілісної системи опанування знаннями та вміннями. Саме формування поєднаної системи безперервного навчання є нагальною проблемою сучасної медичної освіти.

В нашій інтерпретації реалізації проблеми пропонується застосування завдань, що складені на засадах міждисциплінарної інтеграції за принципом «фазису» (східців). Метод полягає у відповідності складності запропонованого завдання до рівня підготовки суб'єкту навчання, починаючи з «азів» неорганічної хімії аж до інтернатури за фахом «Анестезіологія та інтенсивна терапія». Початковий «східець» відповідає рівню підготовки студента, який опановує базові хімічні науки (неорганічна та фізколоїдна хімія). У подальшому під час оволодіння курсом біологічної хімії та на клінічних кафедрах завдання ускладнюється. Випускник вищого навчального медичного закладу має виконувати значно складніші завдання (що передбачено учбовою програмою). Кінцевим «східцем» – для підготованого лікаря-інтерна перед отриманням сертифіката спеціаліста. В майбутньому досить реально розробити «фазисну» ескалацію до рівня слухачів циклів тематичного удосконалення лікарів із вузьких питань спеціальності. Реалізація потреб у потоці пошукової активності апріорно перетворює об'єкти на мотиви, розвиток яких здійснюється через зміни та поширення кола діяльності.

Вже на початку навчання студент свідомо інформований про важливість поглибленого вивчення хімічних наук, оскільки посиндромна терапія є прерогативою практичної діяльності анестезіолога - «інтенсивіста» і базується на поглибленій діагностиці та корекції патологічних (здебільшого біохімічних) процесів. У подальшому студент вже не буде ставитися до вивчення фундаментальних наук як до важкої та не дуже потрібної діяльності, оскільки хоче бути кваліфікованим фахівцем. Таким чином формується апріорна (прелімінарна) мотивація починати своє формування як спеціаліста не на клінічних кафедрах, а задалегідь, тобто на самих початкових етапах навчання.

Наші спостереження протягом останніх 5 років (89 лікарів-інтернів перед отриманням сертифіката спеціаліста) дозволили дійти таких висновків:

1. «Східчасті» міжпредметні завдання певною мірою визначають відповідність учбово-методичного комплексу інтегративному змісту дисципліни.

2. Априорна мотивація формує прагнення студента починати своє формування як спеціаліста на самих початкових етапах навчання.

3. Міждисциплінарна інтеграція у вивченні базових хімічних наук та анестезіології (інтенсивної терапії) в своїй основі передбачає відповідність фахівця соціальному замовленню.

**ЛАУРЕАТИ ПРЕМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ.
МАКСИМ ФЕДОТОВИЧ ГУЛИЙ (1974 р.)**

ВИНОГРАДОВА Р. П., ЧЕРНИШ І. Ю., ДАНИЛОВА В. М.

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

З метою відзначення вчених, які опублікували найкращі наукові праці, здійснили винаходи і відкриття, що мають важливе значення для розвитку науки й економіки України, Національна академія наук України на підставі проведених у відповідних відділеннях НАН України конкурсів присуджує премії імені видатних учених України. Серед 73 іменних премій НАН України чільне місце належить премії імені академіка Олександра Володимировича Палладіна, яка присуджується за видатні наукові роботи в галузі біохімії і молекулярної біології і яку засновано у 1973 р. на честь видатного вітчизняного вченого, фундатора української школи біохіміків, академіка АН УРСР та АН СРСР О. В. Палладіна. Першу премію імені О. В. Палладіна було присуджено у 1974 р. академіку АН УРСР, професору, заслуженому діячеві науки, завідувачу відділу біосинтезу та біологічних властивостей білка Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна Максиму Федотовичу Гулому (1905–2007) за роботи в галузі обміну речовин, результати яких було узагальнено в монографії «*Основные метаболические циклы*», К.: Наукова думка, 1968, – 417 с. В цій роботі на основі величезного власного експериментального матеріалу і даних літератури теоретично обґрунтовано виключно важливу фізіологічну і біохімічну роль основних обмінних циклів у живих організмах – *трикарбонового, пентозофосфатного і карбоксилювання (фіксації CO₂)*. Описано механізми біохімічних реакцій в циклах перетворення речовин і енергії, а також *комплекси ензимів*, що каталізують ці реакції, шляхи можливого впливу на обмін речовин. Також показано їх нерозривний взаємозв'язок і надано корисні практичні рекомендації, які з успіхом використовуються в медицині і сільському господарстві, зокрема в тваринництві. Під його керівництвом було виконано величезні за обсягом і принципово нові за концепцією експериментальні роботи щодо з'ясування ролі і місця вуглекислоти в основних метаболічних перетвореннях у *гетеротрофів*. Виявлено, що стимуляція реакцій *карбоксилювання* підсилює синтез протеїнів, ліпідів, вуглеводів та інших компонентів клітин, активує функціонування циклу *трикарбонових кислот*. Серед робіт М. Ф. Гулого, пов'язаних із вивченням структурних змін протеїнів, важливими є також дослідження *колагену* – основного компонента сполучнотканинного матриксу – за лейкозу тварин і за дії низьких доз радіації. Один із важливих напрямів дослідницької роботи М. Ф. Гулого – розробка оригінальних методів очищення і кристалізації індивідуальних ензимів тваринного і мікробного походження, таких як *альдолаза, фосфофруктокіназа, фосфорилаза, каталаза, глюкозооксидоза* тощо. Його фундаментальні дослідження обміну речовин завершилися створенням низки лікарських препаратів («НАМАЦИТ», «МІКРОЦИД», «МЕДИХРОНАЛ» тощо) і розробкою технології виготовлення *мінерально-амонійних преміксів* для тваринництва. Блискучі результати М. Ф. Гулого з вивчення протеїнів і ензимів було високо оцінено на державному рівні присудженням йому Державної премії СРСР (1952 р.) та двох Державних премій УРСР в галузі науки і техніки (1978 і 1985 рр.). М. Ф. Гулий створив потужну наукову школу: під його керівництвом виконано 80 кандидатських і 10 докторських дисертацій; серед його найближчих учнів – видатні українські вчені, академіки НАН України С. В. Комісаренко, Г. Х. Мацука, Д. О. Мельничук, які очолюють (або очолювали) всесвітньовідомі наукові установи НАН України та навчальні заклади. Максим Федотович Гулий – це епоха в розвитку вітчизняної біохімічної науки: він безпосередньо причетний до за-

родження наукових досліджень із молекулярної біології взагалі і молекулярної імунології, зокрема. Його наукові ідеї живуть і продовжують розвиватись у роботах учнів і послідовників.

**МАЙБУТНЄ ЖУРНАЛУ
«THE UKRAINIAN BIOCHEMICAL JOURNAL»:
НАБЛИЖАЄМО, А НЕ ТІЛЬКИ ОЧІКУЄМО**

ГРИГОР'ЄВА М. В.

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

Наукові записки Українського біохімічного інституту/*Berichte des Ukrainischen Biochemischen Institutes in Kyev* (1926–1933 pp.), Український біохімічний журнал (1934–1937 pp.), Біохімічний журнал (1937–1938 pp.), Біохімічний журнал (1939–1941 pp.), Український біохімічний журнал (1946–1977 pp.), Украинский биохимический журнал (1978–1992 pp.), Український біохімічний журнал (1992–2013 pp.), *The Ukrainian Biochemical Journal* (з 2014 р.) – так змінювалась назва часопису, заснованого в 1926 р. професором О. В. Палладіним. Протягом усіх цих років статті в журналі друкувалися трьома мовами: українською, російською, англійською. Чому ж саме у цьому році назву журналу змінено на англійську?

Інформаційний світ навколо нас змінюється дуже швидко, і реалії сьогодення спонукають впроваджувати нові технології в наукову комунікацію. Обов'язковим елементом наукового періодичного видання сьогодні є його присутність онлайн. Для покращення іміджу *The Ukrainian Biochemical Journal* (Ukr. Biochem. J.) в Інтернет-просторі на його веб-сайті створено зручний двомовний – українською та англійською – інтерфейс користувача, де представлено зміст номерів, реферативна інформація, архів журналу з повними текстами статей, є зручний пошук тощо.

Обмін ідеями, науковими результатами і фактами потребує найширшого використання англійської мови і відповідних зусиль для підвищення рейтингу наукового журналу. Редколегія та редакція Ukr. Biochem. J. наполегливо пропонує авторам писати або перекладати свої роботи англійською. Утім, маємо труднощі: більшості авторів бракує належного знання англійської мови, а багатьом перекладачам – необхідної кваліфікації для здійснення наукового перекладу загалом і знання біохімічної термінології, зокрема. Зрозуміло, що імпаکت-фактор залежить насамперед від змісту і якості статей, їх актуальності тощо. Проте професійно зроблений переклад робить статті не тільки «читабельними» – якість перекладу суттєво впливає на цитованість, а отже – на імпакт-фактор (Web of Science) і показник SJR (Scopus) журналу. Крім того, доступність статті адекватною англійською мовою також розширює можливості вступу в різноманітні наукометричні бази даних, у репозитарії, каталоги, директорії, міжнародні бібліотеки, що, у свою чергу, також підвищує цитування автора та рейтинг журналу. Так, за останні 10 років в Ukr. Biochem. J. було опубліковано 69 статей англійською (в середньому 1,15 статті на один номер журналу). Для порівняння: у 2000 р. було опубліковано 5 англ. статей, у 2013 і 2014 pp. – по 20 статей (в середньому 3,33 на один номер журналу), тобто є тенденція до збільшення кількості англійських статей саме завдяки поєднанню зусиль авторів і перекладачів. У перспективі журнал також планує співпрацювати з іноземними авторами та рецензентами.

Серед умов якісного представлення журналу в міжнародних базах даних, таких як SCOPUS, PubMed, Thomson Reuters, EBSCO, є надання пристатейних бібліографічних посилань латиницею, без чого посилання не можуть бути опрацьовані та включені до жодних рейтингових оцінок. У цьому році в Ukr. Biochem. J. бібліографічні посилання приведено до міжнародних стандартів – тепер вони відповідають вимогам наукометричних баз, мають повну назву статті, що цитується, і подані англійською мовою.

Іншим аспектом сучасного наукового видання, що сприяє обміну даними між ученими в англійськомовному середовищі, а також коректному цитуванню та швидкому підтвердженню існування

публікації, є цифровий ідентифікатор DOI (Digital Object Identifier). Понад 4 тис. організацій, 23 тис. журналів, усі великі наукові видавництва світу мають DOI. Присвоєння DOI статтям журналу та їхнім електронним версіям є також одним із напрямів майбутньої діяльності, спрямованої на подальший розвиток Ukr. Biochem. J.

РОЗВИТОК НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ІЗ НЕЙРОХІМІЇ В ІНСТИТУТІ БІОХІМІЇ АН УРСР У 1945–1975 РОКАХ. ДОСЛІДЖЕННЯ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ

ДАНИЛОВА В. М., ВІНОГРАДОВА Р. П.

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

У середині ХХ ст. було відомо, що нервова клітина утилізує вуглеводи і що основним субстратом дихання є глюкоза. Щодо шляхів гліколізу в нервовій тканині існували різні погляди. Тому в перші повоєнні роки в лабораторії нервової системи, яка у 1966 р. була перетворена у відділ біохімії нервової системи і якою керував академік О. В. Палладін, увагу дослідників було зосереджено на ензимах, що беруть участь у процесах перетворення вуглеводів головного мозку.

Аналізуючи результати досліджень з обміну вуглеводів у головному мозку, одержані науковцями лабораторії в цей період, слід зазначити, що здебільшого вони були піонерськими і зробили значний внесок у пізнання і розкриття функціонування нервової системи, найскладнішої в організмі людини і тварин. Так, О. Я. Рашба зі співробітниками виявили *амілазу* і *мальтазу* в мозку тварин, що свідчило про розщеплення в ньому глікогену *гідролітичним (амілолітичним) шляхом*. Найактивніше гліколіз відбувався в сірій речовині та в корі головного мозку, тобто в частинах із найскладнішою і найрозвиненішою функцією. О. Я. Рашба дійшла висновку, що *гідролітичні (амілолітичні) і фосфоролітичні* ензими мозку є єдиною системою, яка здатна змінюватись за різних функціональних станів.

Одночасно Б. Й. Хайкіна і К. О. Гончарова виявили *гексокіназу* і *фосфоглюкомутазу* в головному мозку тварин і це підтвердило наявність *фосфоролітичного шляху* перетворення глюкози в нервовій системі, що раніше було під сумнівом. Також вперше було детально досліджено різні форми *глікогену* мозку і встановлено, що він інтенсивно синтезується і розщеплюється, беручи активну участь у постачанні енергії для функціонування нервової системи, а не є інертною сполукою, як вважали на той час. Отже, одержані у відділі експериментальні дані дали можливість встановити роль і місце, яке належить *полісахаридам* у вуглеводному обміні нервової системи.

Цікавими були роботи А. О. Рибіної з дослідження інтенсивності обміну *фосфорних сполук* у головному мозку в умовах збудження і гальмування. Накопичений багатий експериментальний матеріал свідчив про те, що перетворення вуглеводів в аеробних і анаеробних умовах пов'язано з вивільненням енергії, в основному в складі АТР, яка потім використовується для функціонування нервової системи. Підтвердженням цього слугували і дані про вміст і обмін *АТР, креатинфосфату* та особливо дослідження властивостей АТРази мозку кролів і великої рогатої худоби (Ц. М. Штутман).

Отже, дослідження ензимів вуглеводного обміну в головному мозку, які інтенсивно проводилися у відділі біохімії нервової системи під керівництвом О. В. Палладіна, дали змогу встановити *шляхи перетворення вуглеводів* і стверджувати, що вуглеводний обмін за своєю активністю в різних відділах головного мозку перебігає по-різному залежно від їхніх функціональних особливостей, а також залежно від віку і стану тварин.

У той самий період під керівництвом академіка В. О. Палладіна, крім вищезазначених авторів, за цією тематикою проводили наукові дослідження О. П. Готовцева, Л. А. Михайловська, Н. М. Поля-

кова, Л. С. Крачко, В. Є. Якушко, М. Д. Курський, А. О. Мусялковська, О. М. Зряков, П. К. Пархомець, В. Й. Кочерга, Г. М. Чугай.

Таким чином, майже за 30-річний період у відділі біохімії нервової системи Інституту біохімії було одержано унікальний експериментальний матеріал, який свідчив про високий рівень енергетичного обміну в нервовій тканині та про особливу роль вуглеводів у цьому процесі.

ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ ВВЕДЕННЯ БОЛОНСЬКОГО ПРОЦЕСУ В СИСТЕМУ ВИЩОЇ ОСВІТИ (ЗА МАТЕРІАЛАМИ FEBS CONGRESS 2013)

КНЯЗЄВА М. В.

*Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна;
ГО «Нове мислення у медицині», Україна;
e-mail: m_knyazyeva@ukr.net*

Особливості викладання біохімії у теперішній час тісно пов'язані з переходом системи освіти на принципи Болонської декларації. Проблеми викладання біохімії щорічно обговорюються на конгресах FEBS, що дозволяє додержуватись єдиної стратегії викладання. Так, на 38-му Конгресі FEBS (Санкт-Петербург, 2013) U. Halm (Німеччина) в своїй доповіді «Болонський процес – що ми загубили і що ми пропустили» відмічає, що більшість викладачів його установи перед реформою були досить задоволені змістом «старих» курсів й результатами професійної підготовки студентів. Більшість студентів отримали PhD ступені й були запрошені на роботу у провідні лабораторії миру. Метою запропонованого європейськими політиками Болонського процесу (який змінив програму отримання диплому на програму бакалаврата і магістрата) було: скорочення часу навчання; зменшення «норми» («ціни») для відчислення з ВНЗ; введення модулів із великою кількістю тестів і контролів, що не дають можливості зрозуміти, чи є студенти підготовленими за даним предметом. Обраний шлях мав би зробити молодих академіків такими, що відповідають вимогам ринку, зробити прозорість у навчанні й надати можливість змінювати місце навчання по всій Європі без згаяння часу. Більшість університетських професорів Німеччини не схвалили рішення політиків, але ж процес реформації почався і його вже неможливо було зупинити. Зараз, після 5–6 років досвіду, можливо визначити недоліки навчання, що можна скасувати під час реформування. U. Halm підтримує курси навчання бакалаврів й магістрів, але ж їх реалізація має бути спланована краще. Треба модернізувати повний курс навчання, адаптувати нові винаходи і обладнання, зробити сучаснішими програму і план навчання. Щоб «освіжити» знання за предметом, мотивувати студентів, що наближаються до фіналу навчання, отримати впевненість в тому, що студенти в змозі зробити узагальнення вивченого матеріалу, треба ввести фінальний іспит за деякими предметами. I. Leban (Словенія, Любляна) в доповіді «Болонська реформа – локально і глобально» зазначає, що реформа була оригінальним політичним рішенням, планом дії для економіки Європейського Союзу з метою зробити її більш конкурентною, що базується на знанні, здатною до економічного росту. Болонський процес – це, без сумніву, історія успіху, але ж автор є прихильником не революційних, а поступових змін для маленької країни Словенії. У латинській мові слово «revolution» означає «грунтовні зміни», а в грецькій мові для визначення ґрунтовних змін існує термін «katastrophe». I. Leban вважає, що «отримане знання» є необхідною умовою незалежності, але ж «академічний капіталізм» є намаганням «виставити» університети на ринок, де викладачі є найнятими робітниками, а університети – одним з видів бізнесу з його метою отримання максимальних прибутків й розподілу власності. Автор вважає, що існує небезпечність закриття фахових підрозділів, плата на яких для кожного студента є високою. J. A. Tanner et al. (університет, Гонконг) поділився досвідом використання різних стратегій викладання біохімії – інтеграції досвідного вивчення предметів з теоретичним; театралізовані інсценівки з біохімії для розвитку творчих здібностей і можливостей співробітництва тощо. D. Reisner (Німеччина) висловив думку про те, що для успішної

роботи в промисловості випускникам університетів слід адаптувати свої знання до нових форм професіоналізму як менеджмент проекту, розподіл ресурсів, робота в команді. R. Arnon (Israel) доповів про успішну взаємодію базових досліджень і прикладної науки. Викликали певний інтерес доповіді В. Bechinger, V. Berl, V. Frisch (Франція), U. Genschel (Брюссель), T. Zima (Прага).

Таким чином, досвід введення Болонського процесу в систему вищої освіти виявив досягнення й недоліки, які мають бути скасовані за удосконалення реформи.

НАУКОВИЙ ВНЕСОК УКРАЇНСЬКИХ ВЧЕНИХ У РОЗВИТОК БІОХІМІЇ

МИСНИК О. Ф., КУЗНЕЦОВА О. В.

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна

Засновником вітчизняної біохімії є Данилевський Олександр Якович (1838–1923; Харків) – видатний учений у галузі експериментальної медицини, фізіологічної хімії, біохімії, доктор медичних наук (1863), член-кореспондент Петербурзької АН (1898), завідувач кафедри біохімії медичного факультету Харківського університету (1885). Проводив дослідження в галузі хімії й обміну протеїнів різних органах, ензимології, біохімії травлення. В 1886 році експериментально довів можливість синтезу протеїновоподібних речовин із пептонів за участю ензимів, довів наявність у клітинах агентів, які стимулюють їх дію ензимів. Вперше власною методикою вибіркової адсорбції розділив ензими підшлункової залози, а у 1901 році й навів докази вмісту в тканинах так званих антиензимів – антипепсину і антитрипсину. Класифікував протеїни мозку, розробив методику виділення з м'язів міозину, запропонував оригінальну теорію будови протеїнової молекули, «теорію елементарних рядів». Ініціював і разом із братом Данилевським В. Я. у 1888 році організував видання першого спеціального журналу з питань фізіології – «Физиологический сборник».

До числа найвидатніших українських біохіміків світу можна віднести Горбачевського Івана Яковича (1854–1942, с. Зарубинці, Тернопілля) – доктора медицини (1877), голову найвищої Ради здоров'я Австро-Угорщини (1906), члена Королівського чеського товариства наук (1896), академіка Чеської академії наук та вміння (1912), академіка ВУАН (1925), почесного члена Наукового товариства імені Шевченка (1937). Після закінчення Віденського медичного університету основними напрямками діяльності вченого було вивчення властивостей сечової кислоти, її утворення та метаболізм. Він першим у світі (1882) здійснив синтез сечової кислоти, з'ясував шляхи її утворення в людському організмі. У 1888 році відкрив ензим ксантинооксидазу. У 1883 році у Празькому університеті Горбачевський І. Я. започатковує новий напрям медицини – лікарську хімію. Протязі 1904–1908 років видав 4-томний підручник лікарської хімії чеською мовою. Працював над створенням української хімічної термінології. Запропонував нову методику визначення місткості азоту в сечі та інших речовинах. На Першому українському науковому з'їзді, який відбувся 3–7 жовтня 1926 року, академіка Горбачевського І. Я. було обрано головою з'їзду. Помер 24 травня 1942 року у Празі від уремії – хвороби, яку всебічно вивчав упродовж тривалого часу.

У цьому році минає 65 років від дня смерті та 130 років від дня народження славного сина України Парнаса Якова Оскаровича (1884–1949, с. Мокряни Львівської обл.), видатного біохіміка, професора Варшавського університету (1916–1919), академіка АН СРСР (1942) та АМН СРСР (1944), члена-кореспондента Польської АН, почесного доктора Сорбони і Афіньського університету. У 1939 році при Львівському університеті організував Інститут медичної біохімії. Головним напрямом дослідницької роботи Я. О. Парнаса було вивчення тканинного обміну вуглеводів та ензиматичних процесів, що лежать в основі м'язового скорочення. Зробив теоретичний аналіз механізму гліколізу і спиртового бродіння, зв'язку між реакціями гліколізу та іншими перетвореннями в м'язах. Застосувавши ізотопний метод, у 1933 році отримав детальну картину анаеробного перетворення вуглеводів у м'язах. Схема Ембдена–Мейергофа–Парнаса є головним досягненням біохімії першої половини ХХ століття. У 1935

році спільно з польським вченим Т. Барановським відкрив реакцію фосфоролізу глікогену. У співпраці з датськими фізиками з Копенгагена у 1937 році запропонував використовувати ізотоп фосфор-32 як «мітку» в біологічних дослідженнях. Яків Оскарович Парнас – ймовірний претендент на Нобелівську премію, помер 29 січня 1949 року в тюрмі на Луб'янці.

Досягнення української біохімічної науки відкривають широкі перспективи для подальшого прогресу біохімічних досліджень в Україні, що потребує більшої інтеграції зусиль вітчизняних вчених-біохіміків, посилення міжнародного співробітництва у сфері створення нових фармакологічних і фізіологічно активних речовин, залучення нових методів, технологій з використанням наноструктур, математичного та комп'ютерного моделювання.

МЕТОДОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВИКЛАДАННЯ КУРСУ БІОХІМІЇ У ВИЩИХ НАВЧАЛЬНИХ ЗАКЛАДАХ ГАЛУЗІ «ФІЗИЧНЕ ВИХОВАННЯ, СПОРТ І ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ»

ОСИПЕНКО Г. А., ВДОВЕНКО Н. В.

*Національний університет фізичного виховання і спорту України, Київ;
e-mail: natazly-v@rambler.ru*

Підготовка спеціалістів для галузі фізичного виховання, спорту і здоров'я людини включає вивчення медико-біологічних дисциплін, у тому числі біохімії, що створює фундамент для подальшої професійної підготовки майбутнього тренера, реабілітолога, рекреатора тощо. Біохімія викладається студентам освітньо-кваліфікаційного рівня «бакалавр» у вигляді двох модулів: «Загальна біохімія» і «Біохімія спорту», або «Біохімія м'язової діяльності». Вивчення студентами цієї дисципліни завжди проходить з великими труднощами в зв'язку з відсутністю хороших знань з хімії та біології. У цьому зв'язку викладання «Біохімії» вимагає впровадження новітніх технологій для того, щоб студенти змогли усвідомити необхідність отримання знань з цієї дисципліни, успішно засвоїти теоретичний матеріал та вміти використовувати їх у своїй майбутній практичній діяльності.

У Національному університеті фізичного виховання і спорту України викладання курсу «Загальної біохімії» проводиться не за класичним поділом її на розділи «Статична біохімія» та «Динамічна біохімія». Багаторічний досвід викладання цієї дисципліни показав, що студентами краще засвоюється матеріал, коли розглядається будова та метаболізм окремих класів речовин у взаємозв'язку з його змінами під час м'язової діяльності людини, а також за певних захворювань. Більшою мірою звертається увага на процеси метаболізму, які пов'язані з утворенням енергії, що важливо для розуміння енергозабезпечення м'язової діяльності, та на основні показники метаболізму, які використовуються під час оцінки здоров'я та функціонального стану організму спортсмена. Такий підхід до вивчення тем із дисципліни дозволяє студенту отримати ґрунтовні знання про процеси обміну речовин та енергії, вміня їх використовувати в майбутній професійній діяльності.

На аудиторних заняттях, крім обговорення теоретичних питань, студентами проводиться біохімічне обстеження та оцінка функціонального стану або здоров'я організму студентів із використанням сучасних експрес методів та простої апаратури (глюкометри, лактометри тощо), а також пропонується вирішування ситуаційних завдань.

Згідно з Болонською декларацією багато питань із курсу дисципліни виноситься на самостійне вивчення студентів. Для організації виконання самостійної роботи студентів кафедра та університет забезпечує комплекс навчальних підручників та навчально-методичних посібників, інших матеріалів, можливість використання Інтернет-ресурсу. Самостійна робота студентів включає написання та захист рефератів, підготовку презентацій, що урізноманітнює форму навчання та вимагає від студента розуміння складних біохімічних процесів в організмі людини, а також дозволяє покращити свою рейтингову оцінку.

Таким чином, така методологія викладання дисципліни, на наш погляд, є оптимальною, тому що дозволяє, навіть за обмеженої кількості навчальних годин, надати студенту базові теоретичні знання й уміння практичного їх використання. Актуальним залишається подальше удосконалення методології викладання цієї дисципліни в профільних вищих навчальних закладах України.

**«БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ З БІОХІМІЧНИМИ
МЕТОДАМИ ДОСЛІДЖЕННЯ» СТУДЕНТАМ
З ІНВАЛІДНІСТЮ ПО СЛУХУ**

СОЙКА Л. Д., ШЕГЕДИН М. Б., СМАЧИЛО І. С., ФЕДОРОВИЧ І. П.

*Вищий навчальний комунальний заклад Львівської обласної ради
«Львівський медичний коледж імені Андрея Крупинського», Україна;
e-mail: soika-larisa@ukr.net*

Проблема вищої професійної освіти людей з обмеженими можливостями є невід'ємною частиною кожного суспільства. Вони також мають право на освіту і прагнуть отримати її, щоб повною мірою себе реалізувати. З огляду на це з 1998 року у Вищому навчальному комунальному закладі Львівської обласної ради «Львівський медичний коледж імені Андрея Крупинського» розпочалася підготовка фахівців зі спеціальності 5.12010201 «Лабораторна діагностика» для студентів з інвалідністю по слуху.

Однією з важливих дисциплін циклу професійної та практичної підготовки на спеціальності «Лабораторна діагностика» є «Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження». Підготовка студентів з інвалідністю по слуху проводиться з урахуванням потреб і можливостей цієї категорії студентів.

Зазначимо, що студенти з інвалідністю по слуху навчаються за тією самою навчальною програмою, що й звичайні студенти, що чують, але враховуючи їх фізіологічні особливості, кількість годин на вивчення дисципліни «Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження» збільшено, і відповідно термін навчання становить 2,5 роки.

Під час викладу навчального матеріалу основна увага звертається на активізацію візуального сприйняття та зорової пам'яті, визначення змістових центрів кожної теми, виокремлення основних понять, ідей, встановлення зв'язків між ними.

Перед початком лекційних занять студенти з інвалідністю по слуху отримують роздрукований конспект лекції, особливістю якого є наявність виразної візуальної інформації, а саме: малюнків, схем, таблиць, графіків, і як додаток словник спеціальних термінів та іншомовних слів (глосарій). Навчальний матеріал викладається послідовно, логічно та доступно.

Лекційні заняття забезпечуються багатим унаочненням із використанням мультимедійних презентацій, інтерактивної дошки, відеофільмів із субтитрами тощо.

Поряд із засвоєнням теоретичного навчального матеріалу, велика увага приділяється практичним заняттям, на яких проводяться біохімічні дослідження. За результатами їх нерідко встановлюється діагноз, контролюється перебіг захворювання, прогноз. Необхідно зазначити, що за виконання завдань на практичних заняттях студенти з інвалідністю по слуху дуже уважні, зосереджені, відповідальні.

Ключову роль у взаємодії викладача та студента, що не чує, відіграє сурдоперекладач, який під час передачі навчальної інформації, застосовує калькуючу жестову мову, поєднуючи її з дактильною. Завдяки професіоналізму сурдоперекладача створено дактильно-жестовий словник спеціальних термінів із дисципліни.

Контроль якості знань студентів проводиться із застосуванням різних форм і методів навчання (комп'ютерні тестові завдання, ситуаційні задачі, ділові ігри тощо).

ПЕРЕВАГИ ТА НЕДОЛІКИ КРЕДИТНО-МОДУЛЬНОЇ СИСТЕМИ*ТОКАРИК Г. В.**Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
e-mail: galina_tokaryk@rambler.ru*

У сучасних умовах провідної гуманістичної парадигми національної системи освіти перед медичними ВНЗ стоїть нелегке завдання – професійна підготовка лікаря. Метою впровадження новітніх технологій є підвищення ефективності навчального процесу, формування особистості, яка здатна критично мислити, адаптуватись у будь-якому середовищі. А народження нових ідей, підходів, теорій та моделей орієнтовано, в першу чергу, на людину. Проте для ефективного впровадження новітніх тенденцій необхідна переоцінка попереднього досвіду, стереотипів, норм, ціннісних пріоритетів та часто відхід від форм традиційного навчання, що нерідко стає причиною збентеження та появи різних тверджень щодо функціонування, доцільності змін, які запроваджено в системі вищої освіти з часу приєднання України до Болонської конвенції. Тому вивчення основних переваг та недоліків Болонського процесу, а також їх аналіз, є надзвичайно актуальними.

Основними перевагами цієї системи є те, що вона стимулює студентів до активної регулярної роботи протягом семестру, вимагає ініціативності від них, студенти звикають до різних форм індивідуальної роботи, може передбачити свою оцінку за модуль і в разі потреби виправити її. Поряд з тим, можна відмітити і такі недоліки модульно-рейтингової системи. Вона призводить до нервового та розумового виснаження через безперервну напругу протягом семестру; з деяких дисциплін дуже високі вимоги до отримання балів; на різних кафедрах та в різних викладачів різні вимоги до студентів; відсутній час для підготовки до підсумкового модульного контролю безпосередньо перед його проведенням; бали, накопичені під час семестру, не завжди відображають якість знань, а свідчать скоріше про активність студента, а бали за модуль не завжди відображають реальні знання студента; крім того, постійне змагання призводить до погіршення стосунків між членами колективу.

Цілком логічно напрошується висновок про необхідність подальшого удосконалення підготовки і студентів, і викладачів, щоб максимально зберегти позитивні здобутки національної системи освіти й ефективно використати досвід європейських країн для підготовки мобільного, творчого спеціаліста високої кваліфікації.

Що стосується викладання біохімії, перш за все, необхідно зменшити обсяг матеріалу – в першу чергу орієнтуватись на фах. Розробити та підготувати дистанційні лекції з біохімії та детальні консультації по розділах, що дало б змогу студентам прослуховувати необхідний їм матеріал у такому темпі, який підходить індивідуально студенту та у зручний для них час, не виходячи з дому. Тим самим збільшиться самостійна робота студента та зменшиться навантаження на викладачів, зменшиться необхідність у додаткових консультаціях під час підготовки до модуля чи його перескладання. Ввести використання на паперових та електронних носіях тестових завдань різного ступеня складності з однією, двома і більшою кількістю правильних відповідей, що дозволить об'єктивно, неупереджено оцінювати знання та ступінь засвоєння теоретичного матеріалу з теми заняття. Підвищити мотивацію до вивчення дисципліни, заохотити до участі в роботі студентського гуртка кафедри, в студентських наукових конференціях, де є можливість різних форм індивідуальної роботи. Надзвичайно важливим кроком є створення студенту позитивної атмосфери навчання. А саме, не виключати студентів через неуспішність, а дати можливість перескладати модуль і виникне мотивація до навчання, тоді зникне необхідність заплатити хабара.

Таким чином, модернізація української системи вищої освіти має бути побудована на якісно новому методі сприйняття.

Алфавітний покажчик

- Авдеева Л. В. 180, 196
Авдіюк К. В. 170
Адамовська В. Г. 254
Александрова К. В. 38, 76, 155, 277
Алтухова Л. В. 26
Амжад Хамдаллах 145
Андрейко Г. П. 194
Андронати С. А. 164
Андрусишина И. Н. 171
Антонюк В. О. 228
Антоняк Г. Л. 250
Аюшин Н. Б. 239
Бабан В. М. 65
Бабенко Д. О. 172
Бабець Я. В. 39
Бабій С. О. 5
Базалицька І. С. 147
Базилянська В. Р. 10
Бака О. М. 105
Бакурова О. М. 6
Бараненко Б. О. 40
Барштейн В. Ю. 198
Батіщева Г. С. 197
Бахмачук А. О. 217
Бацманова Л. М. 240, 260
Бевзо В. В. 9
Безкровна Л. Я. 254
Бекетов Г. М. 167
Белава В. Н. 235
Белозоров А. П. 7
Белявская Л. А. 159
Бердишев А. Г. 10, 13
Берегова Т. В. 23, 89
Береговая К. А. 214, 215
Береговий С. 42
Бережная Е. А. 63
Березницький Г. К. 167
Берник О. О. 43, 67
Беленічев І. Ф. 38
Беляєва Т. О. 184, 193
Бирюков Д. Ю. 209
Біла І. І. 29
Біленький С. А. 38
Білець М. В. 115
Білецька Л. П. 145
Білоіваненко С. О. 173
Білоконь Л. Є. 38, 277
Білоліпецька О. С. 79
Бітюцький В. С. 187
Богатирьова О. В. 278
Боднар О. І. 50
Бойко А. Л. 186
Бойко В. В. 86
Бойко Л. А. 34
Боренко О. Ю. 44
Борзенко Б. Г. 6, 73, 143
Борзова Н. В. 183
Борисова Т. О. 127
Боріков О. Ю. 60
Бразалук О. З. 21, 44, 107, 278
Бродяк І. В. 29
Бубнов Р. В. 142
Бубновська Л. М. 57
Буко В. 78
Бурлака Ю. Б. 45
Бурлова-Васильєва М. К. 46, 47
Буряченко С. В. 48
Бухтіарова Т. А. 11
Бухтіяров А. Є. 184, 193, 219
Бухтіярова Н. В. 38
Бучко О. М. 241
Вайнер А. А. 229, 233
Валдек П. 211
Варбанец Л. Д. 160, 170, 183, 207
Варенюк І. 28
Вассер С. П. 51, 154
Василенко І. В. 6
Вдовенко Н. В. 284
Весельський С. П. 43, 65
Верхова О. О. 6
Виноградова Р. П. 271, 279, 281
Вінніков А. І. 54, 176, 191
Вінярська Г. Б. 50
Вірченко О. В. 56
Вітак Т. Я. 51
Власенко О. Г. 176
Вовчук И. Л. 117
Водоп'янова Л. А. 242
Войціцький В. М. 253
Волкова Н. О. 278
Волкова Ю. В. 63, 126
Волощук Н. І. 8
Волощук О. М. 52
Волощук О. М. 53

- Волювач О. В. 184, 193, 219
Воробець Д. З. 103, 116, 157
Воробець З. Д. 103, 116, 157, 272
Воробей Є. С. 54
Воробйова Н. В. 177
Воронкова О. С. 54
Ворошилова Н. М. 243
Гаврилюк А. М. 84
Гавриляк В. В. 55
Гаділія О. П. 56
Гайда Г. З. 178
Галаган Н. П. 150
Галенова Т. 28
Ганусевич І. І. 57
Гачкова Г. 78, 100
Генбач І. О. 58
Герасьов А. О. 205
Гергалова Г. Л. 137, 273
Геруш І. В. 9, 59, 99
Гіммельрейх Н. Г. 127
Главацкий О. Я. 105
Голопура С. І. 243
Голота Ю. 28
Голтвянский А. В. 192
Гончар М. В. 178, 216
Горбатюк О. Б. 217
Горбач А. И. 179
Горбач Н. І. 269
Горбенко Н. І. 60
Горбулінська О. В. 61
Гордієнко Ю. А. 35
Горідько Т. М. 10
Горчев В. Ф. 171
Горшкова О. Г. 184, 193
Грабова А. Ю. 180
Грабовський С. С. 230
Гребіник А. Г. 181
Гребіник Д. М. 129
Григор'єва М. В. 280
Григор'єва Н. П. 64
Гринберг М. Л. 220
Гринюк І. І. 129, 181
Гринь Н. В. 45
Грицай Д. В. 118
Грицай Р. В. 182
Гриценко Н. А. 214, 215
Грищенко В. А. 236
Грищук В. І. 125, 150
Громовой Т. Ю. 171
Грубінко В. В. 50
Грудіна Н. С. 240
Грузіна Т. Г. 189
Губський Ю. І. 11
Гудзенко Е. В. 183
Гудзенко Т. В. 184, 193
Гула Н. М. 10, 13
Гуляева В. И. 81
Гуменюк Л. Д. 57
Гуранич С. П. 83
Гусак В. В. 161
Давидова Н. В. 64
Давыдов В. В. 63, 145
Данилова В. М. 271, 279, 281
Данченко Н. М. 65
Данченко О. О. 231, 248, 269
Дацюк Л. О. 66
Дацюк У. В. 66
Дворщенко К. О. 43, 67
Декина С. С. 163
Дементьева Н. А. 44
Демків І. Я. 20
Демченко О. А. 186, 187
Денисова О. М. 242
Деніс Є. О. 68
Дзвінчук М. Д. 224
Дзень Є. О. 250
Дзюба О. С. 188
Дибкова С. М. 189
Дідан Ю. В. 190
Дімова М. І. 173, 184
Довбинчук Т. 28
Донченко Г. В. 25
Дорош Е. Г. 114
Досенко В. Є. 151
Драговоз И. В. 180, 196
Драніцина А. 28
Драннік Г. М. 113
Дрегваль О. А. 191
Дробот Л. Б. 129
Дроздова Л. А. 86
Дубей І. Я. 190, 205, 208
Дубовецький А. С. 167
Дубровна О. В. 212
Дударенко М. В. 127
Дяченко В. Д. 209
Дяченко Л. М. 35
Дячков М. В. 155
Ейсмунд П. А. 107
Ельчищева Ю. В. 192
Ерстенюк А. М. 153
Ерстенюк Г. М. 83, 110, 147
Єфименко О. 42

- Єхалов В. В. 278
Жебеленко Я. Г. 73
Жерносекова И. В. 176
Жиленко В. В. 14
Жолобак Н. М. 187, 224
Журавель О. В. 14
Забелина И. А. 114
Загайко А. Л. 69, 90
Задворний Т. В. 152
Зайков В. С. 221
Заїченко О. С. 87
Заїчко К. О. 139
Заїчко Н. В. 8, 22, 71, 72, 139
Закальська О. М. 216
Закальський А. Є. 216
Залеток С. П. 14
Звягіна Т. С. 60
Здоровцева Л. М. 231
Зеленая Л. Б. 180
Зінкович І. І. 140
Золотарьова О. К. 206
Зуйков С. А. 73
Иванов Р. В. 118
Йолтухівський М. М. 74
Иутинская Г. А. 159
Іваниця В. О. 172, 193
Иванов В. К. 187, 224
Иванова О. В. 60
Іваночко Р. Б. 75
Іванченко Д. Г. 76
Іляш В. М. 196
Іщук Т. В. 77
Калачнюк Г. І. 245
Калачнюк Л. Г. 245, 246
Калачнюк М. С. 246
Калашник Д. М. 136
Каліман П. А. 273
Калініна Н. А. 113
Каліщук О. А. 113
Кальченко В. І. 151
Канюка О. 78, 100
Карковська М. І. 216
Карпец Ю. В. 232
Карпова І. С. 79
Катрій Т. Б. 80
Кацан В. А. 168
Качула С. О. 72
Кашкалда Д. А. 81, 109, 126
Кеца О. В. 82
Ким Г. А. 239
Кіндрат Г. В. 83
Кіндрат І. П. 83
Кіприч Т. В. 60
Кіт Ю. Я. 84, 91
Кладницький В. Ю. 173
Климнюк С. І. 84
Климова Е. М. 86
Клисть Ю. Г. 85
Клімашевський В. М. 13
Кліх Л. В. 252
Кнава О. Э. 18
Князєва М. В. 282
Коберська В. А. 258
Кобилінська Л. І. 87
Коваленко А. А. 114, 209
Кованова Е. М. 84
Ковельська А. В. 57
Ковзун О. І. 131
Ковтун Ю. П. 205
Козырицкая В. Е. 159
Колесник Д. М. 248
Колесник Н. А. 15
Колеснікова І. М. 99, 124, 167
Колибо Д. В. 121, 210
Коломійчук С. Г. 16
Колошко О. М. 22
Колупаєв Ю. Е. 229, 232, 233
Комісаренко С. В. 99, 121, 167, 210, 273
Коновалова Е. О. 194
Конон А. Д. 195, 213
Конуп І. П. 184, 193
Копильчук Г. П. 52
Корда М. М. 122
Кордюм В. А. 208
Корж Ю. В. 196
Корнелюк О. І. 177
Корнійчук О. П. 108
Король Л. В. 15, 88
Корольова Д. С. 125, 150, 151
Коротаєва Н. В. 172, 193
Короткий О. Г. 89
Короткий Ю. В. 53
Костюк О. В. 21
Костюченко О. П. 99
Косякова Г. В. 10, 13
Косян А. М. 249
Кот Ю. Г. 26
Котинський А. В. 197
Котляр І. П. 68
Коцюруба А. В. 84
Кравченко Г. Б. 90
Кравченко Н. К. 46, 80

-
- Кравчун Н. А. 114
Красільнікова О. А. 90
Криворотенко Д. В. 190
Крилова К. Д. 172
Крисанова Н. В. 277
Кріль І. Й. 84, 91
Крісанова Н. В. 155
Круподьорова Т. А. 198
Крючкова Л. А. 180, 196
Кудря М. Я. 120
Кудрявцев К. В. 56
Кузнецова О. В. 283
Кузнецова Г. М. 68
Кулинич Т. М. 109
Куліцька М. І. 27
Курас Л. Д. 93
Курбатова І. М. 261
Курченко І. М. 165
Кучерявченко М. А. 94
Кушнір О. Ю. 59
Кушнірик О. В. 199
Лабинцев А. Ю. 210
Лавинская Е. В. 86
Лавріщев О. Д. 278
Лалименко О. С. 120
Лебединский А. С. 118, 119
Левицкий А. П. 18, 163, 201
Левицький Ю. А. 254
Левіч С. В. 38, 155, 277
Легкая Л. В. 22
Лесик Р. Б. 87
Леус М. Ф. 16
Литвинюк Н. І. 95
Лихацький П. Г. 96
Лихмус О. Ю. 137
Лихота О. Б. 254
Личковський Е. І. 103
Лісничук Н. Є. 20
Лісютин Г. В. 173, 184, 193
Лоест К. 211
Лозинский В. И. 118
Ломако В. В. 98
Лугініч Н. М. 99
Луговська О. Е. 151
Луговської Е. В. 99, 124, 125, 151, 167
Лук'янова Н. Ю. 152
Лупак М. 78, 100
Луцик М. Д. 200
Луцик М. М. 200
Луцюк М. Б. 74
Лучка І. В. 250
Лушак В. І. 274
Лянна О. Л. 44
Лященко О. В. 278
Макай Ш. 14
Макар Н. Г. 103, 116
Макаренко О. А. 18, 201
Макогоненко Є. М. 124, 167
Максимів І. В. 161
Максимович І. Я. 241
Максимович Я. С. 273
Маліщук І. В. 223
Мамонтова Л. А. 57
Манжалій Е. Г. 105
Манько А. М. 23
Маринюк М. О. 251
Маркова О. В. 105, 106
Маргинюк В. С. 149
Марченко М. М. 82, 263
Маслак Г. С. 21
Матишевська О. П. 129, 181
Мацелюх О. В. 202
Мацишин М. Й. 217
Машейко І. В. 107
Мегедь О. Ф. 10, 13
Межинська О. О. 130
Мельник А. В. 8, 22
Мельник О. В. 108
Мельникова Н. М. 243, 252
Мельниченко О. М. 187
Мельничук Д. О. 246
Мельничук Л. В. 93
Мельничук С. Д. 245, 253, 264
Мигаль Л. А. 15
Мигаль Л. Я. 113, 208
Микитенко А. О. 23
Милютин Е. И. 7
Мисник О. Ф. 283
Михайленко Н. Ф. 204
Михайлова Е. А. 194
Михайлюк В. В. 205
Мідик С. В. 253
Міщенко Л. Т. 61
Мойсеєнок А. Г. 22
Мокросноп В. М. 206
Молодченкова О. О. 254
Морозова В. С. 253
Мосійчук Н. М. 161
Москалець Т. З. 68
Мурланова К. С. 111
Мусієнко М. М. 240, 249
Муценко В. В. 221

-
- Назаренко В. І. 275
Наконечна Л. Т. 165, 220
Нарута Е. 78
Начетова Т. А. 109
Нево Е. 51, 154
Негруцька В. В. 190, 205
Немова Т. В. 255
Непорада К. С. 23
Нетюхайло Л. Г. 140
Нечипуренко О. О. 142
Нечитайло Л. Я. 110
Нидялкова Н. А. 207
Никитина Н. А. 26
Никитченко Ю. В. 119
Никулина В. В. 179
Ніженковська І. В. 111
Нікітаєв С. В. 208
Ніколаєва Ю. В. 269
Нікуліна Г. Г. 113, 208
Носач С. Г. 155
Нурищенко Н. Є. 149
Обозный А. И. 232
Овсеян А. М. 163
Овсянникова Т. Н. 114, 146, 209
Оканенко О. А. 235
Олефір Я. 42
Олійник О. С. 121, 210
Ольхович О. 211
Ольховский О. С. 71
Омельченко О. Є. 115
Онопченко О. В. 13
Онуфрович О. К. 116
Оришака О. В. 117
Орябінська Л. Б. 188
Осинський Д. С. 57
Осинський С. П. 57
Осипенко Г. А. 284
Осінська Л. Ф. 111
Остапченко Л. І. 77
Остапюк С. Н. 220
Оченашко О. В. 118, 119
Павличенко А. К. 165
Павловский В. И. 164
Палагіна І. А. 120
Паливода К. О. 99, 121
Палюх Т. А. 257
Панасюк Я. В. 122
Панчук І. В. 250
Панчук Р. Р. 22
Панюта О. О. 235
Пархоменко О. М. 125
Пархоменко Ю. М. 25, 130
Парцей Х. Ю. 95
Пасичник Л. А. 180
Пасік Ю. С. 165
Пасічник Г. В. 129
Пахомова О. О. 76
Пацко О. 211
Паша Н. С. 21
Пашевін Д. О. 151
Пашенко Ю. П. 231
Пелюх Л. І. 149
Перский Е. Э. 26
Песчана К. О. 10
Петербургський В. Ф. 1132
Петренко А. Ю. 118, 119, 221
Петренко Ю. А. 118, 221
Пеховская Т. А. 22
Пидюра М. О. 99
Пикало С. В. 212
Пилипенко С. В. 89
Пирог Т. П. 195, 213, 214, 215
Пирогов В. О. 208
Пирогова Л. В. 124
Письменна Ю. Б. 220
Платонова Т. М. 124, 125
Плехова Е. И. 126
Подопригорова В. Г. 146
Подпалова О. М. 149
Позднякова Н. Г. 127
Поліщук В. М. 258
Поліщук О. В. 197
Поліщук С. А. 258
Посохова К. А. 27
Потопальський А. І. 168
Похоленко Я. О. 208
Прасанна Б. Д. 188
Прилуцька С. В. 129, 181
Прокопів Т. М. 216
Протасова З. С. 25, 130
Пузирьова І. В. 184, 193
Путніков А. 28
Пушкарьов В. В. 131
Пушкарьов В. М. 131
Раєцька Я. Б. 77
Ракша Н. Г. 47
Рачков О. Е. 217
Репецька О. М. 83
Решетняк Н. А. 133
Резніченко Л. С. 189
Рибалко С. Л. 53, 224
Рибальченко В. К. 68

-
- Рогульська Е. Ю. 118
Рожко М. М. 83
Романенко М. І. 76
Романовська І. І. 163, 164
Ромоданов С. А. 105
Рослова Н. 28
Росихин В. В. 134
Рубан Г. В. 231
Рудько Н. П. 155, 277
Савченко В. С. 113
Савчук О. М. 46, 47, 77, 80
Савяк О. Л. 218
Самохіна Л. М. 98, 136
Свергун Н. Н. 179
Світлова Н. Б. 260
Севастьянов О. В. 164
Сеньків О. М. 241
Сербіна І. Є. 113, 208
Серга О. І. 260
Середницька К. Р. 137
Серкіз Р. Я. 216
Сибірна Н. О. 29
Сидор Р. І. 179
Сирчін С. О. 165
Ситар О. 211
Ситник І. М. 137
Сіксаї Л. Т. 138
Сірчак Є. С. 138
Скачкова О. В. 179
Скибіцька М. 100
Склярів О. Я. 75
Скок М. В. 86, 137
Скорохид Н. Р. 22
Слободян З. О. 95
Слуцкая Т. Н. 239
Смачило І. С. 285
Смертенко О. А. 53
Сойка Л. Д. 285
Сокол О. А. 7
Соколік В. В. 31
Соколовський В. А. 150
Сокур О. В. 32
Солдаткін О. П. 217
Софилканич А. П. 213
Сохань В. Д. 218
Співак М. Я. 142, 187, 224
Станіславчук А. В. 50
Станіславчук М. А. 139
Стасюк Н. Є. 178
Шашкевич М. А. 140
Степаненко С. П. 25, 130
Степанова Н. М. 15
Стойка Р. С. 22, 84, 87
Сторож Л. А. 267
Стороженко В. О. 260
Стрельченко К. В. 69
Струтинська О. Б. 139
Суббота А. Г. 220
Сухарев С. Ю. 166
Сухарев Ю. С. 166
Сухова Л. Л. 63
Сухомлин А. А. 23
Сухомлин Т. А. 140
Таран І. В. 8
Таран К. В. 60
Таран Н. Ю. 211, 235, 240, 260
Тарасенко К. В. 141
Тарасенко Л. М. 115
Тарусин Д. Н. 221
Творко М. С. 84
Тесленко А. В. 173
Тимошок Н. О. 142
Ткаченко В. П. 176
Токарик Г. В. 286
Толстанова Г. 28, 42
Томчук В. А. 236
Тронько М. Д. 131
Тубулкан К. М. 71
Тупицька О. М. 261, 262
Турчина С. І. 126
Тымчук А. А. 176
У Сі 143
Удовикова Н. А. 81
Ульберг З. Р. 189
Уманська А. В. 253
Урвант Л. П. 167
Ушакова Г. О. 39, 144
Ушенін Ю. В. 167
Фабрі З. Й. 138
Фалалеева Т. М. 56
Фафула Р. В. 103, 116
Федорова Г. О. 143
Федорович І. П. 285
Ференц І. В. 29
Ференчук Е. О. 9
Филимоненко В. П. 69
Філіпенкова Н. Г. 217
Філонік І. О. 237
Фіра Л. С. 34, 96
Фомаїді С. В. 235
Фоменко О. З. 144
Франскевич Д. В. 129, 181

-
- Хаврона О. П. 145
Харкевич О. С. 165
Хижняк С. В. 253
Хміль Н. В. 146
Ходаков И. В. 201, 222
Холін В. О. 10
Холодкова О. Л. 46
Хомутов Е. В. 58
Хомутов С. В. 140
Хопта Н. С. 147
Хохла М. Р. 61
Храновская Н. Н. 179
Хрипач В. А. 233
Хрипаченко И. А. 133
Христосенко Р. В. 217
Хромагина Л. Н. 18
Хромишев В. О. 248
Худа Л. В. 199, 263
Худий О. І. 199, 263
Цап П. Ю. 167
Цвіліховський В. І. 264
Цвіліховський М. І. 243, 251, 255, 257
Цейслер Ю. В. 149
Цепко Н. Л. 241
Цехмістренко С. І. 258
Цимбалюк В. І. 40
Цісарик О. Й. 266
Цубер В. Ю. 115
Цудзевич Б. О. 65
Чайка Я. 100
Чайковская Н. В. 146
Частий Т. В. 7
Чебан Л. М. 223
Чекман І. С. 189
Черевач Н. В. 191
Черниш І. Ю. 279
Чернишенко В. О. 150, 151
Чернишенко Т. М. 124, 125, 150
Чеховская Л. И. 25, 130
Чехун В. Ф. 276
Чехун С. В. 152
Чихира О. В. 20
Чоп'як В. В. 84
Чуєнко А. І. 220
Чумак В. В. 22
Чупашко О. Я. 272
Шабаш М. Л. 262
Шадура Ю. М. 187
Шандура М. П. 205
Шатова О. П. 73
Шаульська О. Е. 35, 144
Швиденко Н. В. 229
Шевцова А. І. 35, 144
Шевченко Т. Н. 54
Шевченко Ю. А. 44
Шевченко Ю. В. 204
Шевчук В. А. 224
Шевчук Т. А. 195
Шегедин М. Б. 285
Шелифіст А. Е. 224
Шеремет А. А. 119
Шестеренко Е. А. 164
Широбоков В. П. 53
Шкурашівська С. В. 153
Штат'яко О. І. 72
Штеменко Н. І. 5
Шторандт Р. 211
Щербаков А. Б. 186, 187, 224
Юзвенко Л. В. 186
Юкало А. В. 265, 266
Юкало В. Г. 267
Юр'єва О. М. 165
Юркевич Л. Н. 168
Юрків Б. І. 154
Юрченко Д. М. 155, 277
Якименко Т. І. 156
Якимчук О. М. 251
Яковійчук О. В. 231
Яковенко М. Г. 134
Якубенко Е. Д. 133
Якубець О. І. 157
Янковський Д. С. 23
Яремій І. М. 59
Яремчук О. З. 27
Ярош А. С. 269
Ястреб Т. О. 229
Яценко Л. М. 127
Andreeva S. V. 33
Andriichuk A. V. 238
Arukhovska L. I. 7
Artysh O. 33
Astrautsova S. A. 123
Avdieiev S. 4
Babinskiy A. V. 203
Bachynska N. Yu. 19
Balynska O. 173
Bayliak M. 249
Bdzhola V. G. 167
Berdyshev A. G. 40
Berger W. 24
Bolibrukh K. B. 112
Boyko A. L. 174

-
- Boyko O. A. 174
Broda D. 256
Burlaka O. M. 175
Butters T. D. 123
Chae Ho Zoon 132
Dekaliuk M. O. 185
Demchenko A. P. 185
Denysova O. 244
Donchenko G. 12, 203
Dotsenko V. 191
Dovgusha O. 92
Dranitsina A. S. 49, 69
Dubei I. 173
Dvorshchenko K. O. 49, 69
Ehrlich H. 162
Falfushynska H. 33
Filonenko V. V. 161
Galinsky O. O. 135
Gera L. 4
Gerashchenko G. V. 29
Gnatyshyna L. 33
Golub A. G. 167
Gonchar M. 216, 256
Gorka A. 256
Grigorieva M. V. 62
Grygoryuk I. P. 174
Gudzera O. I. 167
Guzyk M. 12
Halenova T. 92, 112
Havrylyuk D. 4
Heffeter P. 24
Hodges R. 4
Horák D. 203
Hudan-Tsilio I. I. 148
Hula N. M. 40, 115
Huleyuk N. R. 33
Ivanova A. M. 50
Kalashnyk O. M. 19
Kalchenko V. I. 77
Kashuba V. I. 29
Katsen-Globa A. 162
Kavsan V. 4, 33, 173
Kholin V. A. 19
Khomenko A. V. 97
Kiyamova R. G. 161
Klenina I. A. 135
Klimashevsky V. M. 115
Komisarenko S. V. 7
Korda M. M. 17, 121, 148
Korets K. V. 33
Kostianets O. I. 161
Kosyakova G. V. 40, 115
Kotsarenko K. V. 90
Koval L. M. 19
Kovalenko O. P. 167
Kozachok O. 249
Kuchmerovska T. 12
Kurhaluk N. M. 238
Kuzmenko O. I. 203
Kyrychenko O. V. 247
Kyznetsova M. 92
Labudzynkyi D. O. 36
Lehka L. V. 24
Lesyk R. 4
Lisakovska O. O. 97
Liubich L. D. 101, 102
Lokshyn M. 225
Lototska O. Ju. 97
Lozinsky V. I. 162
Lukash L. L. 90
Lykhmus O. Yu. 19
Lylo V. V. 90
Lylyk M. 249
Macewicz L. L. 90
Macková H. 203
Makarchuk V. A. 104, 135
Matviiv N. Y. 121
Maydanyuk E. V. 50
Mazanova A. O. 36
Mazur S. P. 162
Melnychuk M. D. 174
Melnykova N. M. 234
Morgaienko O. O. 69
Mutsenko V. V. 162
Mykytenko D. O. 33
Nechai G. I. 256
Nikolaeva I. V. 112
Nitsche J. M. 244
Novikov V. P. 112
Obolenskaya M. 191
Olhovskiy O. S. 15
Onopchenko O. V. 115
Oshmyanska N. Y. 135
Osipenko A. A. 50
Ostapchenko L. I. 132
Palamarchuk I. V. 15
Palytsya L. M. 121
Palyvoda O. M. 203
Panchuk R. R. 24
Panyushkina N. V. 50
Peschana K. O. 19
Petrenko A. Yu. 162

Petrenko Yu. A. 162
Pirko Ya. V. 175
Pismenetskaya I. U. 123
Pokusaieva A. O. 203
Polovkovych S. V. 112
Popova L. D. 128
Prokopiv T. 216
Pustovyy V. I. 203
Pyrshch K. A. 185
Rakhmetov A. 132
Ribrag V. 4
Rogul'skaya E. Yu. 162
Rohr J. 24
Rosenberg E. E. 29
Ruban T. P. 90
Rudenko A. I. 135
San Pil Li 132
Savchuk O. 92, 112
Savko U. V. 69
Semenova V. M. 101
Shandrenko S. G. 70
Shcherbakov A. 225
Shidlovski V. 33
Shmihel H. 249
Shulgai A. 33
Shydlovska O. 225
Shymanskyi I. O. 36, 97
Skok M. V. 19
Smirnov O. E. 259
Smutok O. 216
Spivak M. 225
Stayno L. P. 101
Stepanenko A. A. 33
Sterligov V. 225
Stoika R. 24
Stoliar O. A. 90
Stoliar O. 33
Tkachenko H. M. 238
Tkachova I. V. 238
Tokarchuk K. O. 70
Tukalo M. A. 167
Ushakova G. A. 104
Vakal S. E. 49
Vassetzky Y. S. 4, 33
Vasylyeva I. M. 128
Vdovenko N. V. 50
Veliky M. M. 7, 70
Veselskiy S. P. 174
Vodopyanova L. 244
Voitenko L. P. 19
Volkogon M. V. 247
Wnuk M. 256
Yaremchuk G. D. 167
Yarmoluk S. M. 167
Yastremska S. O. 121
Yemets A. I. 175
Yermishev O. V. 234
Yurchenko P. A. 15
Yuskiv L. L. 268
Zaichko N. V. 15
Zaikov V. S. 162
Zaitseva O. V. 70
Zhegunov G. 244
Zholobak N. 225
Zimmermann H. 162