

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ім. О. В. ПАЛЛАДІНА

УКРАЇНСЬКИЙ БІОХІМІЧНИЙ ЖУРНАЛ

Науково-теоретичний журнал
Засновано акад. О. В. Палладіним 1926 р.
Виходить один раз у два місяці

УКРАИНСКИЙ БИОХИМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
THE UKRAINIAN BIOCHEMICAL JOURNAL

Том № 82, № 4 (додаток 2), 2010

Київ

Матеріали X Українського біохімічного з'їзду 13-17 вересня 2010 р., м.Одеса

Зміст

III. Медична біохімія

Доповіді	4
Стенові повідомлення	37

IV. Біотехнологія. Біобезпека. Біозахист

Доповіді	202
Стенові повідомлення	222

V. Викладання біохімії, молекулярної біології та біотехнології. Шляхи вдосконалення фахової підготовки молодих вчених

Доповіді	332
Стенові повідомлення	338
Алфавітний показчик	353

За організаційну та фінансову підтримку в підготовці і проведенні X Українського біохімічного з'їзду та за публікацію матеріалів з'їзду Українське біохімічне товариство висловлює щирю подяку:

- Національній академії наук України (НАНУ),
- Міністерству освіти і науки України,
- Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України,
- Одеському національному університету ім. І. І. Мечникова,
- Національному університету природних ресурсів і природокористування України,
- Федерації європейських біохімічних товариств (FEBS),
- ЗАТ «МАКРОХІМ», Україна
- Компанії BIO-RAD лабораторії, США-Україна
- Тов. ALSI Chrom ЛТД, Україна
- Тов. ALSI ЛТД, Україна
- Компанії HVD - Life Sciences, Україна
- ООО Baltic Bio Trade, Литва-Україна
- Директору ПП СП «Біла акація», д.м.н., проф. Колоденку В. О.

ІІІ. МЕДИЧНА БІОХІМІЯ

ДОПОВІДІ

ВІТАМІН D₃ І ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ

АПУХОВСЬКА Л. І.

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

В останні роки науковцями і експертами різних країн світу приділяється велика увага вітаміну D₃. Вважають, що “нові дослідження у галузі вітаміну D₃ є великим проривом у медицині і мають велике значення для суспільної охорони здоров'я” (C.Garland). Це пов'язано, перш за все, із новими уявленнями щодо фізіологічної функції вітаміну D₃. Він відповідає за проліферацію і диференціацію клітин органів і систем, у тому числі імунокомпетентних, регулює обмін речовин (мінеральний, ліпідний, протеїновий, синтез гормонів, ензимів), є регулятором функціональної активності органів і систем, відповідає за репродуктивну функцію. В останні роки показано його антибактеріальний ефект, який проявляється шляхом ініціації вітаміном D₃ синтезу природних антибіотиків широкого спектра дії, що підтверджується ефективністю лікування вітаміном D₃ не тільки сезонних простудних захворювань, грипу, у тому числі H₁N₁, але й інших інфекцій, включаючи менінгіт, пневмонію, туберкульоз тощо.

Тому вважають, що дефіцит вітаміну D₃ необхідно розглядати як патологічний стан, внаслідок якого створюються умови розвитку широкого спектра захворювань, пов'язаних не тільки із патологією кісткової системи, але й таких, як цукровий діабет, серцево-судинні, онкологічні патології, імунодефіцитні стани тощо. У цьому разі дефіцит вітаміну D₃ носить епідеміологічний характер. Обстеження, що проведені в різних країнах світу, свідчать про те, що від 50 до 97% обстежених мають дефіцит вітаміну D₃, що є основною причиною захворювань, зниження строку життя, підвищення смертності. Водночас достатня забезпеченість вітаміном D₃ попереджує розвиток багатьох патологій, у тому числі й онкологічних. Тому велика увага приділяється питанням діагностики стану забезпеченості вітаміном D₃ та препаратам вітаміну з точки зору їхньої біодоступності і ефективності, методичним підходам їхнього використання, синергізму їхньої дії з іншими вітамінами, у тому числі із вітаміном E, який підвищує ефективність фізіологічної дії вітаміну D₃ шляхом регуляції його транспорту у гепатоцити, де відбувається синтез 25OHD₃ — першого активного метаболіту холекальциферолу, і впливом на активність вітамін D₃ 25-гідроксилазних ензимів. Разом з тим, ефект вітаміну E на обмін вітаміну D₃ залежить від дози вітаміну E, терміну його призначення і стану забезпеченості організму вітаміном D₃. Найбільш ефективним є вітамін D₃ у вигляді протеїнового комплексу (Відеїн), у разі введення якого підвищується вміст 25OHD₃ на 53 й 100% порівняно із введенням його у формі CWS (гранульована водорозчинна форма, яка широко використовується при виготовленні препаратів, що містять вітамін D₃) та розчині олії відповідно.

INVESTIGATION OF GENETIC AND EPIGENETIC CHANGES OF GPX1, GPX3 GENES IN HUMAN RENAL CELL CARCINOMAS

¹BOGATYROVA O. O., ¹GERASHCHENKO G. V., ^{1,3}KASHUBA V. I.

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

²*National Institute of Cancer, Ministry of Public Health, Kyiv, Ukraine;*

³*Tumor and Cell Biology Center, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden;
e-mail: o.a.bogatyreva@gmail.com*

Renal cell carcinoma (RCC) is the most common malignant kidney tumor in adults. It accounts for 3% of all human malignancies. Among cancers of the urinary system, renal cell carcinoma is associated with the worst clinical outcome. At present, surgical resection is the most effective treatment for localized RCC tumors. Tumor stage is considered to be the most informative prognostic factor. Many genes and signaling pathways are known to be involved in RCC initiation and progression. Several potential candidates were proposed, however until today no tumor suppressor gene responsible for or at least contributing to clear renal cell carcinomas (cRCC) has been identified. Also little is known about molecular expression profiles associated with tumor growth, metastasis and progression of cRCC. We chose the most predominant type, clear cell carcinoma, for this study and performed a large-scale analysis of gene expression profiles in such tumors.

Genetic/epigenetic changes can be investigated using microarray analysis and Serial Analysis of Gene Expression (SAGE). The aim of our investigation was screening SAGE and Microarray databases for searching genes with expression level changes and for selection of potential epithelial renal tumor markers.

cRCC are characterized by loss of genetic material of chromosome 3,8,9,10. To identify markers of RCC as targets for novel therapeutic drugs, we investigated genome-wide expression profiles of RCCs in all human chromosomes using bioinformatics analysis of all accessible cDNA microarray experiments. R Project for Statistical Computing (www.r-project.org) was used for analysis. We compared 11 independent experiments and obtained 84 normal and 83 tumor samples for analysis differently expressed genes. We also compared 2 normal and 1 kidney libraries using SAGE Digital Gene Expression Displayer (DGED) for finding genes with different expression level in kidney carcinogenesis. We have obtained 11 genes, which partly coincide in results of Microarray and SAGE analysis for our research. According to their function in renal progression and forming metastasis we choose 2 genes: *GPX1*, *GPX3* – for studying their genetic and epigenetic changes in tumors.

These two genes: glutathione peroxidase 1 and 3 (*GPX1*, *GPX3*) belong to the glutathione peroxidase family. Glutathione peroxidase functions in the detoxification of hydrogen peroxide, and is one of the most important antioxidant enzymes in humans. *GPX1* and *GPX3* expression was down-regulated in 100% of cRCC samples in comparison to surrounding normal tissue. TBP expression level was found to be constant in tumor and normal renal tissue. While no significant association was found between gene expression level and sex or age, it should be pointed out that the expression has a trend to correlate with histological grade. Thus, tumors of grade 3-4 have lower *GPX1* and *GPX3* mRNA level than tumors of grade 1-2.

Our data support the hypothesis that these 2 genes are involved in tumorigenesis of cRCC. Both genetic and epigenetic mechanisms contribute to down-regulation of these genes, one of them is represented in one tumor suppressor clusters in 3p21.3. Expression of *GPX1* and *GPX3* was simultaneously decreased in renal cell carcinomas. Our data suggest that the *GPX1* gene is a candidate of renal tumor suppressor genes (TSG) for the centromeric 3p21.3 region. The identification of differentially expressed genes in renal cell carcinoma could lead to the identification of potential marker set for biological phenomena such as invasiveness or metastasis, which would be of significant value for diagnosis, prognosis, and treatment, where *GPX1* and *GPX3* could be included.

ВЛИЯНИЕ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ СИСТЕМ ХОЛЕСТЕРОЛА НА ТРАНСДЕРМАЛЬНУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-БЕНЗДИАЗЕПИНОВ

¹БОЙКО Ю. А., ^{1,2}КРАВЧЕНКО И. А., ²НОВИКОВА Н. С.

¹Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;

²Физико-химический институт им. А. В. Богатского

НАН Украины, Одесса;

e-mail: yuriyalex@mail.ru

Одним из важных аспектов современной фармакологии является поиск и разработка новых путей введения лекарственных препаратов. Сравнительно новым и перспективным является трансдермальный. Нами было изучено влияние жидкокристаллических систем (ЖС) эфиров холестерина на трансдермальное введение производных 1,4-бенздиазепина.

Исследования проводили на нелинейных белых мышах-самцах одинакового возраста и массой тела. Трансдермальные терапевтические системы (ТТС) готовили следующим образом: смесь эфиров холестерина расплавляли, к полученному расплаву добавляли феназепам в количестве 0,05 мг на 50 мг смеси, тщательно перемешивали и выливали в форму. Были получены 5 ТТС с различной температурой фазового перехода. Затвердевшие ТТС апплицировали на 2 часа на выстриженные межлопаточные участки спины мышей, после чего проводили оценку минимальных эффективных доз (МЭД) коразола, вызывавших клонико-тонические судороги (КТС) и тоническую экстензию (ТС) при внутривенном введении. Для определения возможных механизмов влияния жидкокристаллических систем на липидные мембраны нами были изготовлены фосфолипидные липосомы и липосомы из экстракта липидов рогового слоя, содержащие 10% жидкокристаллической системы, а также мембранный зонд — пирен. Изменение интенсивности флуоресценции пирена определяли на спектрофлуориметре (Varian Carry Eclipse).

В ходе проведенных исследований нами было показано, что все использованные жидкокристаллические системы эфиров холестерина вызывают увеличение МЭД коразола. Подобный эффект говорит об увеличении чрезкожной проницаемости для феназепама. Наибольшее влияние на проницаемость оказывала жидкокристаллическая система 2, имеющая $\Delta t_{\text{фаз.пер.}} = 24,5\text{--}31,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, которая увеличивала по-

казатели ДКТС и ДТЭ на 335 и 370%, соответственно. Такую высокую активность можно объяснить температурой фазового перехода, соответствующей температуре участка кожи в месте наложения ТТС. Высокие показатели были зафиксированы также для других ЖС. Температуры фазовых переходов этих систем также близки к температуре поверхности кожи опытных животных.

По изменению интенсивности флюоресценции пирена, включенного в состав липосом, можно судить о степени изменения текучести липидного бислоя. При включении в состав фосфолипидного бислоя жидкокристаллических систем интенсивность флюоресценции уменьшается по сравнению с контролем в 1,46; в 1,13; 1,03 и 1,3 раза для систем 1, 2, 3 и 4 соответственно. Полученные данные свидетельствуют об увеличении текучести липидного окружения. Для липосом, полученных из липидов рогового слоя, установлено не только уменьшение интенсивности флюоресценции, но и сдвиг максимума флюоресценции в сторону меньшей длины волны при добавлении жидкокристаллических систем (с 393 до 374 нм). Подобный факт свидетельствует об уменьшении поляризации липидного окружения, что может быть дополнительным фактором, влияющим на увеличение проницаемости.

Проведенные исследования показали высокую эффективность жидкокристаллических систем эфиров холестерина, как возможных усилителей чрезкожной проницаемости.

РЕГУЛЯЦІЯ ГІДРОКСИЛЮВАННЯ ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ (ВІТАМІНУ D₃) У НОРМІ ТА ЗА ДІАБЕТУ

ВЕЛИКИЙ М. М., АПУХОВСЬКА Л. І., ВАСИЛЕВСЬКА В. М.

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

Метаболізм вітаміну D₃ в організмі забезпечується функціонуванням ряду спеціалізованих ензимів, зокрема цитохромів P-450 (CYP2R1, CYP27A1, CYP27B1), які обумовлюють утворення гормонально активних гідроксильованих метаболітів та катаболітного цитохрому P-450 CYP24A1. Останній відіграє вирішальну роль у біотрансформації 25-гідроксिवітаміну D₃ (25OHD₃) та 1α,25(OH)₂D₃. Недостатність вітаміну D₃ або інгібування процесів його гідроксильовання веде до порушення кальцієвого гомеостазу, підвищує ризик виникнення остеопорозу, цукрового діабету, ревматоїдного артрити, а також захворювань нервової та імунної систем.

Метою досліджень було вивчити механізми регуляції синтезу 25OHD₃ та активності вітаміну D₃ 25-гідроксилазних ензимів гепатоцитів за різної забезпеченості організму щурів вітаміном D₃ та за цукрового діабету.

Встановлено, що за недостатності вітаміну D₃ в 2 рази знижується вміст його гідроксильованої форми — 25OHD₃ у сироватці крові щурів та зростає вітамін D₃ 25-гідроксилазна активність у гепатоцитах. За дії високих доз вітаміну D₃ вміст 25OHD₃ у сироватці крові зростає в 3,5 рази за одночасного інгібування вітаміну D₃ 25-гідроксилазної активності у гепатоцитах. У гепатоцитах виявлено дві вітаміну D₃ 25-гідроксилазні системи — мікросомну та мітохондріальну, які відрізняються

за активністю, регуляцією та функціонують з максимальною швидкістю за різних концентрацій субстрату, а саме при 15 мкМ та 100 мкМ вітаміну D₃ відповідно. Активність мікросомної вітаміну D₃ 25-гідроксилази гепатоцитів регулюється холекальциферолом та α -токоферолом, який попереджує обумовлене вітаміном D₃ інгібування цієї ізоформи ензиму.

Розвиток експериментального алоксанового діабету у щурів супроводжується чітко вираженим станом D-гіповітамінозу. У сироватці крові більше ніж в 2 рази знижується вміст основних гідроксильованих форм вітаміну D₃ – 25ОНD₃, 24,25(ОН)₂D₃ та 1 α ,25(ОН)₂D₃ внаслідок гальмування активності вітаміну D₃ 25-гідроксилазних ензимів гепатоцитів. За введення вітаміну D₃ протягом 30 діб виявлено значне підвищення рівня глюкози, інсуліну в крові, а також кількості β -клітин у підшлунковій залозі діабетичних щурів. Нормалізуючий ефект вітаміну D₃ за цукрового діабету обумовлюється здатністю його активних метаболітів регулювати проліферацію, диференціацію та функціональну активність β -клітин підшлункової залози.

ХАРАКТЕРИСТИКА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБІОЗУ ПІХВИ МИШЕЙ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ІМУНОСУПРЕСІЇ

ВОРОНKOBA O. C., CIPOKBACIIA O. A.,
ПOЛІШKO T. M., BІННІKOB A. I.

*Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, Україна;
e-mail: a_vinnikov@ukr.net*

Питання про роль імуносупресії в розвитку дисбактеріозів піхви досі лишається відкритим. Відомо, що якісний та кількісний склад мікрофлори макроорганізму значною мірою залежить від стану імунітету і в той же час нормофлора є одним із факторів неспецифічного захисту організму. Тому вкрай важливим є встановлення того, наскільки розвиток імуносупресії пов'язаний з порушеннями мікробіоценозу піхви, відомим як дисбактеріоз.

Для створення експериментальних імунодефіцитів часто використовують препарати, що містять циклофосфамід, який є одним з інгібіторів функцій імунної системи.

Відповідно до мети даної серії досліджень тварин було поділено на 2 групи: контрольну – інтактні тварини ($n = 15$) та дослідну – тварини, яким вводили циклофосфамід ($n = 20$), добова доза препарату становила 0,12 мг протягом 14 днів.

Введення циклофосфаміду призвело до значного зниження кількості лейкоцитів та лімфоцитів від 10^6 клітин/мл до рівня 10^2 – 10^3 клітин.

Дослідження змін у складі мікрофлори піхви мишей на 10-у добу експерименту дозволило визначити, що за застосування препарату відбувається ініціація та розвиток дисбіотичних явищ у мікробіоценозі піхви, що характеризується зниженням кількості мікроорганізмів, які належать до представників роду *Lactobacillus* (мікроаерофільних на 27,5% та анаеробних на 10,9%), та зростанням кількості стафілококів (від $2,03 \pm 1,39$ до $2,91 \pm 1,80$ lg КУО/мл) і ентеробактерій (від $1,67 \pm 1,06$ до $2,93 \pm 2,06$ lg КУО/мл).

На 30-у добу після припинення введення циклофосфаміду відмічено збереження визначених на 10-у добу тенденцій. Також порівняно з нормою збільшується кількість мікроорганізмів — представників родів *Enterococcus* та *Bacillus*. Кількість *Lactobacillus* при цьому зменшується порівняно із нормою.

Серед анаеробних мікроорганізмів відмічено значне зростання їхньої кількості, що істотно перевищує норму. Протягом всього періоду спостережень значно вищу за норму кількість (КУО) зафіксовано для бактерій — представників родів *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* та *Bacteroides*. Таким чином, можна констатувати, що у разі створення імуносупресії шляхом введення циклофосфаміду спостерігається розвиток дисбактеріозу піхви в мишей.

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ЗАГИБЕЛІ КЛІТИНИ ЗА ДІЇ БІОЦИДНИХ КСЕНОБІОТИКІВ: ВІЛЬНІ РАДИКАЛИ, НЕКРОЗ, АПОПТОЗ

ГУБСЬКИЙ Ю. І., ЛЕВИЦЬКИЙ Є. Л., ОЛАР В. В.

Інститут фармакології та токсикології НАМН України, Київ;

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

e-mail: jurganik@ipnet.kiev.ua

Актуальною проблемою медичної біохімії є розв'язання молекулярно-біологічних механізмів загибелі тваринних клітин за умов ураження високотоксичними ксенобіотиками. Метою роботи було вивчення ролі вільних радикалів, як продуктів гомолітичних реакцій біотрансформації токсичних речовин — хлоралканів та фосфорорганічних сполук у механізмах хімічної загибелі клітини, що розвивається внаслідок вільнорадикальної модифікації біомолекул та супроводжується порушеннями кінетичних властивостей ензимів і надмолекулярних субклітинних комплексів і подальшою дезорганізацією метаболічних процесів.

У доповіді наведено результати досліджень, що стосуються молекулярних механізмів ушкодження клітин печінки та головного мозку щурів в умовах гострої інтоксикації біоцидними ксенобіотиками. Доведено, що у реалізації механізмів токсикогенезу зазначеними класами сполук беруть участь такі ключові патобіохімічні події: утворення за участю певних ізоформ сімейства CYP450 вільнорадикальних метаболітів ксенобіотиків та активних форм кисню; взаємодія хімічно активних метаболітів з чутливими сайтами ДНК та інших компонентів ядерного хроматину (ЯХ); активація реакцій пероксидного окислення фосфоліпідів біомембран та молекул ЯХ.

Наведено результати досліджень, що свідчать про можливість корекції вільнорадикального ушкодження тваринних клітин ксенобіотиками шляхом застосування фенольних АО та N-вмісних гетероциклів, у тому числі похідних нікотинової та ізонікотинової кислоти, нікотинаміду, піридинкарбоксамідів, хіназолінів. На підставі квантово-хімічних розрахунків енергетичних та структурних параметрів молекул зазначених класів аналізується значення енергій граничних МО для реалізації АО активностей природних та синтетичних фенолів і N-гетероциклів.

Встановлена безпосередня взаємодія метаболітів тетрахлоретану з компонентами ЯХ. Розглянуто зміни за цих умов молекулярної організації та функціонування транскрипційно активної та репресованої фракцій ЯХ, ступеню компактизації ДНК, конформації гістонових та негістонових протеїнів, протеїн-ліпідних взаємовідносин, а також активностей ДНК-полімераз α і β та РНК-полімераз I і II. Модифікація фізико-хімічних властивостей біоструктур — мікров'язкості, плинності гідрофобних фаз; порушення конформації та ензиматичних властивостей протеїнів мембран та ЯХ; зменшення величини електрохімічного потенціалу мембран мітохондрій та зміни у розподілі іонів Ca^{2+} , активація Ca^{2+} - і циклонуклеотид-залежних біохімічних систем, зокрема Ca^{2+} -, Mg^{2+} -залежних ендонуклеаз та каспаз є біохімічною основою включення процесів, що лежать в основі апоптотичної та/або некротичної загибелі клітини.

ГЛАЗНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПЛЕНКИ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ ПРОТЕИНОВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

ДЕКИНА С. С., РОМАНОВСКАЯ И. И.

*Физико-химический институт им. А. В. Богатского
НАН Украины, Одесса;
e-mail: s.dekina@gmail.com*

Цель работы — исследование иммобилизации протеиновых препаратов в поливиниловый спирт, создание глазных лекарственных пленок (ГЛП), перспективных для терапии ожогов глаз.

Методами УФ-спектроскопии, мольных отношений изучено поведение протеиновых макромолекул: бычьего сывороточного альбумина (БСА), овальбумина (ОВА), сывороточного альбумина человека (САЧ), папаина в растворах поливинилового спирта (ПВС) и исследованы реологические свойства. Проведенные исследования позволили сформулировать представление о формировании пространственных структур в процессе самоорганизации белков при иммобилизации в ПВС и выявить закономерность иммобилизации, проходящей через стадию насыщения полимера с последующим механическим включением. Изучение комплексообразования показало наличие ассоциатов протеин:носитель при мольных соотношениях БСА:ПВС (1 : 2,5); ОА:ПВС (1 : 3,1); САЧ:ПВС (1 : 4); папаин:ПВС (1 : 1,2).

На основании полученных результатов впервые созданы ГЛП сорбционного и протеолитического действия с использованием иммобилизованных в ПВС САЧ и папаина с мочевиной, обладающие пролонгированным действием и контролируемым высвобождением, что позволяет существенно повысить эффективность их применения в терапии ожогов глаз.

Исследование физико-химических особенностей функционирования ГЛП показало, что совместная иммобилизация папаина и мочевины приводит к существенному (в 1,5 раза) увеличению протеолитической активности энзима.

Медико-биологические исследования разработанных ГЛП с САЧ, папаином и мочевиной, проведенные в Институте глазных болезней и тканевой терапии имени В. П. Филатова АМН Украины, подтвердили эффективность применения иммо-

билизованных препаратов для репарации ожогов роговицы глаз кроликов. Исследована острая токсичность ГЛП с папаином и мочевиной, показавшая отсутствие местнораздражающего, сенсibiliзирующего и токсического действия.

НІТРАТИВНИЙ СТРЕС ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА РОЛЬ ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЙОГО УСКЛАДНЕНЬ

¹ДРЕЛЬ В. Р., ²ЯЛАНЕЦЬКИЙ А. Я., ²ГЕРЖИКОВА В. Г.,
²МІЗІН В. І., ²ЗАГОРУЙКО В. А., ¹СИБІРНА Н. О.

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: drelvictor@gmail.com

²Національний інститут винограду та вина «Магарач», Ялта, Україна

Гіперглікемія як основний маркер діабету 1 та 2 типів, сприяє посиленню утворення вільних радикалів, у тому числі пероксинітриту, який є оксидантом номер один у біологічних системах. Пероксинітрит спричинює як нітрування протеїнів, так і пероксидне окислення ліпідів, розриви ДНК, зміни у передачі клітинних сигналів, активацію полі(ADP-рибозо)полімерази-1 (PARP-1), індукцію некрозу та апоптозу.

Дослідження останніх років вказують на значну роль червоного вина, поліфеноли якого вважаються основними діючими речовинами, які виступають у ролі скавенджерів активних форм кисню, хелаторів іонів заліза та модуляторів активності ряду ензимів.

Метою даної роботи було дослідити вплив червоного вина, на здатність запобігати утворенню нітротирозин-модифікованих протеїнів та активації PARP-1 у периферичній нервовій системі, нирках та сітківці ока щурів за умов експериментального цукрового діабету.

Дослідження проводили на вістар-щурах (самців), розділених на 4 групи: контроль, діабет, контроль + червоне вино та діабет + червоне вино ($n = 5-7$ на групу). За час експерименту виявлено зростання маси тіла контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом при введенні червоного вина (з розрахунку 300 мл вина/70 кг маси тіла/день, протягом двох тижнів перед індукцією діабету та на протязі місяця після початку даного захворювання) на 52 та 19% відповідно.

Виявлене зростання рівня нітротирозин-модифікованих протеїнів у сідничному нерві, дорсальних спинномозкових гангліях, спинному мозку, нирках та сітківці ока на 48, 60, 40, 52 і 38%, відповідно у діабетичних тваринах було достовірно знижено до рівня контролю за умов прийому червоного вина. Показано також нормалізацію активності PARP в сідничному нерві, нирках і сітківці ока діабетичних щурів за умов дії червоного вина.

Одержані результати вказують на важливу роль нітративного стресу і на активації PARP у розвитку діабетичних ускладнень та обґрунтовують можливість застосування червоних вин, а також створення на їхній основі препаратів для профілактики та лікування ускладнень цукрового діабету.

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИГНАЛЬНИХ МЕРЕЖ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЙ РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

*ДРОБІНСЬКА О. В., ОСТАПЧЕНКО Л. І., КРАВЧЕНКО О. О.,
ГАЙДА Л. М., МАКСИМОВИЧ Я. С.*

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: dolesya60@mail.ru*

Системи сигнальної трансдукції, що опосередковані фосфорилюванням протеїнів, відіграють фундаментальну роль у регуляції метаболічних процесів усіх клітин організму. Зокрема, це стосується епітелію слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, клітини якого виявляють високий регенераторний потенціал, який є одним з найважливіших механізмів захисту від пошкоджень. В основі фізіологічного функціонування та оновлення клітин слизової оболонки шлунково-кишкового тракту лежать процеси проліферації, диференціації, міграції і т.д., які контролюються різноманітними ростовими факторами, цитокінами та гормонами. Одними з основних елементів внутрішньоклітинної передачі сигналів у разі взаємодії даних месенджерних сполук із рецепторами є протеїнкінази, які каталізуючи фосфотрансферазні реакції, змінюють функціональні властивості протеїнів-мішеней. Розбалансування фосфосеринового та фосфотирозинового гомеостазу, порушення сигнальних месенджерних каскадів, опосередкованих протеїнкіназами та зміни морфофункціонального стану клітин слизової оболонки кишечника призводять до виникнення різних патологічних станів кишкового тракту.

Метою роботи було дослідити функціонування сигнальних мереж у клітинах слизової оболонки шлунково-кишкового тракту за умов розвитку патологій різної етіології.

На експериментальних моделях коліт-асоційованого канцерогенезу, стрес-індукованої виразки шлунка та хронічного атрофічного гастриту досліджено структурно-функціональний стан мембран парієтальних клітин шлунка і епітеліоцитів товстого кишечника, активність NO-синтази, циклонуклеотид- та Ca^{2+} -залежних протеїнкіназ і тирозинової протеїнкінази.

Одержані нами дані показали, що на початкових стадіях формування досліджуваних патологій гостре запалення супроводжується порушенням бар'єрних властивостей плазматичних мембран клітин, накопиченням токсичних продуктів ліпопероксидації на фоні зниження функціональних можливостей антиоксидантного захисту. Подальші дослідження дали можливість встановити, що у розвиток коліт-асоційованого канцерогенезу, стрес-індукованої виразки і атрофічного гастриту залучені різні ланки сигнальних мереж у клітинах. Так, розвиток атрофічного гастриту супроводжується активацією цАМФ- і Ca^{2+} -залежних протеїнкіназ, в патогенез коліт-асоційованого канцерогенезу задіяні циклонуклеотидзалежні ланки внутрішньоклітинної сигналізації і Ca^{2+} -залежна месенджерна система, а на початкових стадіях розвитку стрес-індукованої виразки шлунка виявлено зростання активності цГМФ-залежної протеїнкінази.

Результати проведеної нами роботи показали, що у патогенезі досліджуваних захворювань процес запалення є пусковим чинником, який здатен порушувати

сигнальну трансдукцію за участю різних ензимів фосфорилювання та створювати передумови для стимуляції гіперпроліферації та малігнізації клітин слизової оболонки шлунково-кишкового тракту.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПОЗАКЛІТИННОГО МАТРИКСУ ДЕРМАЛЬНИХ ФІБРОБЛАСТІВ І ЗАГОЄННЯ ДІАБЕТИЧНИХ ВИРАЗОК

¹ЄВДОКИМОВА Н. Ю., ²КУРБАНОВ А. К., ¹КАРЛОВА Н. П.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Національний медичний університет

ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;

e-mail: bernatasha@voliacable.com

Важливе значення у загоєнні ран має формування позаклітинного матриксу (ПКМ), ведучим компонентом якого вважається гіалуронова кислота (ГК). Головним продуцентом ГК є фібробласти, що за цукрового діабету демонструють наявність клітинної дисфункції. Роль ГК та її рецепторів для процесів репарації за діабету недостатньо вивчена, хоча відомо, наприклад, що високомолекулярна ГК сприяє стану спокою клітин, а її низькомолекулярні фрагменти стимулюють проліферацію та міграцію. Раніше ми показали, що фібробласти хворих на діабет 2-го типу з хронічними виразками експресують більший рівень CD44 (головний рецептор ГК), а їхній ПКМ збагачений на високомолекулярну ГК. Ми припустили, що ці зміни можуть бути причетними до пригнічення проліферативних властивостей фібробластів. Мета роботи полягала у перевірці зробленого припущення.

Були досліджені: (а) безпосередній вплив низькомолекулярних фрагментів ГК, (б) ефект можливої нормалізації стану системи ГК-CD44 через пригнічення гліколізу (бісфосфонат «Мебіфон») та (с) паракринний ефект стовбурових клітин жирової тканини (ADSCs), що продукують не тільки відповідні фактори росту, але ще й секретують гіалуронідазу.

У якості маркерів, окрім вже зазначених, стану ПКМ діабетичних фібробластів були застосовані: експресія іншого рецептора ГК — молекули міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1), секреція фібронектину (FN) і інгібітору активатора плазміногену-1 (PAI-1).

Показано, що низькомолекулярні фрагменти ГК зменшують експресію CD44, не змінюють експресію ICAM-1, стимулюють секрецію TGFβ1 і PAI-1 та позитивно впливають на проліферативні властивості діабетичних фібробластів. Під впливом «Мебіфону» зменшується акумуляція високомолекулярної ГК і експресія CD44, а проліферація клітин прискорюється. Паракринний ефект клітин ADSC призводить до відновлення нормального стану системи ГК-CD44, підвищення експресії ICAM-1, підвищення секреції FN і PAI-1 та нормалізації проліферативних властивостей діабетичних фібробластів.

Зроблено висновок щодо першочергового значення системи ГК — рецептори CD44 та ICAM-1 — для підтримки нормального стану позаклітинного матриксу дермальних фібробластів і загоєння хронічних діабетичних виразок.

РОЗВИТОК ПАТОХІМІЧНИХ КАСКАДІВ ЯК ТИПОВИЙ ПАТОЛОГІЧНИЙ ПРОЦЕС ТРАВМАТИЧНОЇ ХВОРОБИ

ЄЛЬСКИЙ В. М., ЗЯБЛИЦЕВ С. В., ЯКУБЕНКО О. Д.,
ПІЩУЛІНА С. В.

*Донецький національний медичний університет ім. М. Горького, Україна;
e-mail: zsv@medic.donetsk.ua*

Метою дослідження було вивчення динаміки патохімічних розладів внаслідок травматичної хвороби (ТХ) для визначення їхньої патогенетичної ролі, загальних закономірностей розвитку та обґрунтування напрямків діагностики і експериментальної терапії. Стандартну ТХ моделювали за В. М. Єльським у шурів-самців, на моделях шахтної та вибухової травми, шоку від роздавлювання м'яких тканин, черепно-мозкової травми. У динаміці гострого періоду (перші дві доби після травми) визначали вміст у крові та тканинах серця, легень, печінки, нирок і головного мозку малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК), α -токоферолу (α -ТФ); активність пероскидного гемолізу еритроцитів (ПГЕ), супероксиддисмутази (СОД), каталази, катепсину Д (КД), крім того визначали вміст маркерів ендогенної інтоксикації — молекул середньої маси (МСМ), активність фосфатаз: кислій (КФ) та лужної (ЛФ), трансаміназ (АлАТ і АсАТ). Для статистичної обробки даних використовували пакет прикладних програм "STADIA. 6.1/prof", "STATISTIKA". Аналіз даних показав, що незалежно від конкретної моделі, а також важкості перебігу, вже у гострому періоді ТХ формувався так званий синдром посттравматичної ендогенної інтоксикації. Пусковим ланцюгом цього патологічного процесу є надмірна активація ліпопероксидації та накопичення у крові та тканинах ДК і МДА. Це призводить до розвитку гіперферментемії паралельно із накопиченням МСМ (тобто — ендогенна токсемія). Активація ензимів у крові та тканинах відбувається поетапно, внаслідок чого чітко відрізняються певні стадії патохімічних реакцій: у першу чергу — накопичення продуктів ПОЛ, далі — максимально активізуються КД; пізніше (за 2–3 години після травми) — відбувається активація тканинної КФ; а ще пізніше (за 12–24 годин) скачкоподібно збільшується активність КФ у крові. Виснаження антиоксидантних систем також проходить постадійно: спочатку знижується активність антиоксидантних ензимів, а потім, вже на тканинному рівні, різко знижуються резерви α -ТФ. Саме прогресуюче виснаження запасів α -ТФ у тканинах поруч із системним виснаженням антиоксидантних ензимних систем та тлі надмірного накопичення токсинів визначено як загальнопатологічну закономірність перебігу ТХ, а розвиток синдрому посттравматичної ендогенної інтоксикації — як типовий патологічний процес.

ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ГІПЕРЦИСТЕЇНЕМІЇ ТА МОЖЛИВОСТІ ЇЇ КОРЕКЦІЇ ВІТАМІННО-МІКРОЕЛЕМЕНТНИМ КОМПЛЕКСОМ

ЗАІЧКО Н. В., ЛУЦЮК М. Б.

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

Гіперцистеїнемія (як і гіпергомоцистеїнемія) асоціюється з високим ризиком серцево-судинних захворювань та тромбозів. Негативний вплив високих рівнів цистеїну та гомоцистеїну на організм реалізується через схожі механізми: оксидативний стрес, зниження продукції вазодилаторних молекул, модифікацію протеїнів та інші чинники. Способи корекції гіперцистеїнемії невідомі, водночас доведена доцільність застосування вітамінно-мікроелементних комплексів (ВМК) для профілактики і лікування гіпергомоцистеїнемії. Метою роботи була оцінка профілактично-лікувальної дії ВМК за тривалої гіперцистеїнемії (ТГЦ) у щурів.

Досліди проведені на 30 білих щурах-самцях масою 250–270 г. ТГЦ створювали шляхом інтрагастрального введення L-цистеїну (250 мг/кг маси тіла) 1 раз на добу протягом 28-ми діб. Під час дослідження щури отримували стандартний крохмально-казеїновий раціон. Крім того, 10-ти тваринам з моделлю ТГЦ, в дієту додавали ВМК, який містив суміш координаційних сполук цинку (Zn^{2+}) та хрому (Cr^{3+}) з N-2,3-диметилфенілантраніловою кислотою, ванадат амонію (V^{5+}) та вітаміни B₆, B₉, B₁₂. Біохімічні показники досліджували у плазмі крові та печінці, оцінювали стан системи гемостазу.

Довготривале введення L-цистеїну підвищує вміст цієї амінокислоти у плазмі крові з $125 \pm 4,77$ (контроль) до $170 \pm 6,76$ мкмоль/л ($P < 0,05$). За ТГЦ виявлялись значні метаболічні порушення: у печінці зростала активність цистеїндіоксигенази, гамма-глутамілцистеїнсинтетази, цистатіонін-бета-синтази; знижувалась активність цистатіонін-гамма-ліази, сульфітоксидази, метіонінаденозилтрансферази, бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази, S-аденозилгомоцистеїнгідролази, зростала активність NADPH-оксидази. У плазмі крові підвищувався вміст продуктів окислення ліпідів та протеїнів, зменшувався вміст антиагрегантів – гідроген сульфід та оксиду азоту; у фракції тромбоцитів знижувалась активність апірази та зростала активність PGH-синтази; виявлялись ознаки тромбофілії – гіперреактивність тромбоцитів, тромбінемія, зниження активності антитромбіну III та протеїну C, зростання вмісту ПАІ-1 в плазмі крові. Показано, що збагачення дієти ВМК стримує зростання рівня цистеїну у крові, зменшує ознаки гіпометилування, оксидативного стресу та дефіциту антиагрегантів і запобігає розвитку тромбофілії. Отже, використання ВМК відкриває можливості до корекції патологічних станів, які супроводжуються гіперцистеїнемією.

IGF-СИСТЕМА ТА ОНКОГЕННА НАДМІРНІСТЬ РОЗВИТКУ ПУХЛИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ

¹КАВСАН В. М., ¹АВДЄЄВ С. С., ¹АРЕШКОВ П. О., ¹БАЛИНСЬКА О. В.,
¹РИМАР В. І., ¹ДМИТРЕНКО В. В., ¹ЄРШОВ А. В., ²ЗОЗУЛЯ Ю. П.,
²МАЛИШЕВА Т. А., ²РОЗУМЕНКО В. Д., ³САНСОН М.

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;
e-mail: kavsan@imbg.org.ua;

²Інститут нейрохірургії ім. О. П. Ромоданова, Київ, Україна;

³Service de Neurologie Mazarin et INSERM,
Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

Центральна роль, яку система IGF (Insulin-like Growth Factor) відіграє в пухлинній прогресії, робить її мішенню для терапії раку. Водночас, онкогенна надмірність є суттєвою перешкодою для успішного лікування. Хоча IGF-I було запропоновано як одну з мішеней протипухлинної терапії, тим не менше в астроцитомі не виявлена підвищена експресія гену IGF-I. Це може пояснювати, чому анти-IGF-I терапія не дає позитивних результатів, і можна припустити, що розвиток гліальних пухлин активується якимось інакше. Участь IGF-I у клітинних сигнальних шляхах гліобластоми може бути замінена високоекспресованим IGF-II, а також високим рівнем експресії IGF-IIR (Insulin like growth factor-II receptor). Надекспресія IGFBPS (Insulin-like Growth Factors Binding Proteins) активує IGF навіть без збільшення експресії ліганда, що також призводить до анти-апоптотичних наслідків.

Інші гени також можуть стимулювати обидва сигнальні шляхи у гліальних пухлинах. Справді, CHI3L1 (Chitinase 3-Like protein 1, YKL-40) діє як синергіст IGF-I: вони ініціюють MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) і PI3K (Phosphatidylinositol-3-Kinase) сигнальні каскади. Як ми показали нещодавно, YKL-40 з суттєво підвищеною експресією у пухлині стимулює проліферацію та має онкогенні властивості.

YKL-39 також має значно підвищену експресію в гліобластомі і активує ERK1/2 (Extracellular Signal-Regulated Kinases 1 and 2), але знижує вміст ДНК і перешкоджає клітинній проліферації. В той час, як стимуляція фосфорилювання ERK1/2 YKL-40 призводила до короткочасної активації ERK1/2 і відтак до проліферативного сигналу, обробка YKL-39 дала тривалу активацію. Аргументи, висунуті у попередній і даній роботах, свідчать, що коли клітини «вирішують» проліферувати, а не диференціювати, — причина полягає в різній тривалості активації ERK. Однак, серйозним обмеженням цієї моделі є те, що спочатку вона базувалася на експериментах з клітинами PC12 (Pheochromocytoma Cell Line 12), які можуть репрезентувати аномальну систему. В інших досліджених нами клітинах, а саме HEK293 (Human Embryonic Kidney Cell Line 293), після обробки YKL-39 також зафіксована тривала активація ERK1/2, і, таким чином, цю дію YKL-39 можна розглядати як загальний сигнальний ефект, що веде до проліферації чи диференціації. В чому ж різниця між YKL-40 і YKL-39? Вони обидва мають досить високу гомологію, однакові NH₂-залишки, їхні 3D-структури також дуже близькі. Основна відмінність між ними, що YKL-40 є N-глікозильованим у позиції Asn60.

Використання системи IGF для спрямованої протипухлинної терапії швидко стає клінічною реальністю, так що всебічне розуміння цієї складної проблеми є дуже своєчасним.

ПРОТЕОЛІТИЧНО АКТИВНІ АНТИТІЛА (ПРОТАБЗИМИ) ЯК ПОТЕНЦІЙНІ МАРКЕРИ У ДІАГНОСТИЦІ АВТОІМУННИХ ТА ГЕМАТООНКОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛЮДИНИ

КІТ Ю. Я.

*Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: kit@cellbiol.lviv.ua*

Встановлено, що взаємодія антитіл (АТ) із антигенами (АГ) може призводити до гідролізу АГ. Виявлені в організмі людини АТ, які виявляють гідролітичну активність щодо АГ, отримали назву «природних» («натуральних») каталітично активних антитіл або абзимів. Субстратами природних абзимів можуть бути протеїни, нуклеїнові кислоти і олігосахариди. За субстратною специфічністю абзими можна класифікувати на низькоспецифічні та високоспецифічні. Низькоспецифічні абзими, виявлені у сироватці крові, хворих на автоімунні, гематоонкологічні, та деякі інфекційні захворювання, відносяться до анти-ДНК антитіл, які здатні гідролізувати ДНК, РНК та синтетичні олігонуклеотиди. Вони отримали назву ДНК-абзимів. Крім каталітичної активності, характерною ознакою цих антитіл є їх висока цитотоксична активність щодо пухлинних і трансформованих клітин та активованих лімфоцитів людини. Оскільки у сироватці крові клінічно здорових людей ДНК-абзими не виявлено, їхня присутність в організмі людей свідчить про розвиток автоімунних процесів.

Прикладом високоспецифічних каталітично активних антитіл є абзими із протеолітичною активністю, що отримали назву протабзимів. Каталітична активність протабзимів, виявлених у сироватці крові хворих на автоімунні захворювання, головним чином, скерована на гідроліз авто-АГ, задіяних у розвитку автоімунних та деяких інших захворювань. Вузька субстратна специфічність робить протабзимами перспективними молекулярними маркерами для діагностики та прогнозування розвитку автоімунних та онкогематологічних захворювань.

Метою роботи було дослідити антигенну специфічність та протеолітичну активність АТ сироватки крові хворих на деякі автоімунні (системний червоний вовчак, розсіяний склероз) та гематоонкологічні (множинна мієлома) захворювання, а також встановити можливий взаємозв'язок між активністю цих антитіл та особливістю перебігу хвороби.

Під час проведених досліджень в сироватці крові хворих на системний червоний вовчак, розсіяний склероз і множинну мієлому виявлено низькоафінні антигістонові АТ, здатні гідролізувати гістон H1 і основний протеїн мієліну, а також стимулювати проліферацію клітин лейкемії людини *in vitro*. Ці АТ можуть слугувати маркерами важкості перебігу деяких автоімунних та гематоонкологічних захворювань у людини.

ЕНЗИМАТИЧНО ДЕГРАДОВАНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНО НЕПОВНОЦІННІ ПРОТЕЇНИ ТА ЇХНІЙ ВПЛИВ НА ПЕРЕБІГ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

КЛИСЬ Ю. Г., ВЕРЬОВКА С. В.

*ДУ «Інститут отоларингології ім. О. С. Коломійченка
АМН України», Київ;*

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

Притаманна багатьом патологіям надмірна гідролітична дія протеолітичних ензимів призводить до утворення широкого спектра структурно ушкоджених протеїнів, що істотно впливають на перебіг регуляційних процесів, порушуючи динаміку та послідовність проходження їхніх окремих стадій. Особливої уваги у цьому разі заслуговують функціональні наслідки утворення протеолітично ушкоджених похідних протеїнів, що у тій чи іншій мірі зберегли функціональну активність. Визначення відмін у властивостях між подібного роду похідними та інтактними протеїнами може виявитись корисним для оцінки стану організму в цілому.

Мета роботи полягала у дослідженні ензимної активності ключових ензимів системи гемостазу плазми хворих на онкозахворювання верхніх дихальних шляхів по відношенню до нативних протеїнових і низькомолекулярних синтетичних субстратів та оцінка діагностично-прогностичного виявлених відмін. На прикладі груп пацієнтів з запальними захворюваннями та злоякісними новоутвореннями верхніх дихальних шляхів досліджено активність ензиматичних та інгібіторних компонентів системи гемостазу. Показано істотні відмінні як між показниками досліджуваних груп, так і контролем, виявлено характер змін, зумовлених операційним втручанням. Відмічено істотне гальмування функціональної активності як зсідуючої, так і фібринолітичної систем крові, особливо у групі хворих на онкозахворювання. Водночас по відношенню до неспецифічних протеїнових та специфічних синтетичних субстратів показники активності досліджуваних ензимів, навпаки, істотно підвищені. Подібні зміни можуть бути пояснені утворенням частково деградованих похідних ензимів, по відношенню до яких наявні в достатній кількості нативні інгібітори виявляються неефективними, а здатність до участі у регулярних процесах істотно зменшена. Утворення подібного роду похідних зумовлює порушення регуляційних процесів, функціонально необумовлену активацію численних протеїнових проформ, функціонально невиправданий протеоліз. Обговорюються шляхи впливу структурно ушкоджених протеїнів та їхніх фрагментів на перебіг метаболічних процесів на різних рівнях.

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ В ДІАГНОСТИЧНОМУ КОМПЛЕКСІ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ РАКУ ЯЄЧНИКІВ ІІІ–ІV СТАДІЙ

КНЯЗЄВА М. В., ПРОКОПЮК О. В., ПАВЛОВА Т. Д.

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, Україна;

ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва

АМН України», Харків;

ГО «Нове мислення у медицині»;

e-mail: marina_k@tnss/kharkov.ua

У зв'язку з успіхами в галузі біохімії сполучної тканини все більш актуальним стає використання біохімічних методів визначення показників стану сполучної тканини глікозаміногліканів (ГАГ) — для характеристики пухлинного процесу та його змін під впливом хіміотерапії (Слуцкий Л. И. и др. 1989; Берштейн Л. М. и др., 2003; Павлова Т. Д. и др., 2006; Karamanos N. K. et al., 2005–2008).

Метою даної роботи було визначення діапазонів кількісних змін вмісту сумарних ГАГ та їх фракцій у сироватці крові хворих на рак яєчників (РЯ) ІІІ–ІV стадій неоперабельних на І етапі лікування, в динаміці проведення неоад'ювантної поліхіміотерапії (НПХТ) для оцінки її ефективності. Було обстежено 146 хворих на РЯ ІІІ–ІV стадії. Основну групу (І) склали 82 хворих на РЯ ІІІ–ІV стадій, яким на першому етапі комбінованого лікування проведено неоад'ювантну поліхіміотерапію (1–6 курсів), а на другому — операцію (ОП) з наступною ПХТ. Контрольну (ІІ) групу склали 44 хворих на РЯ ІІІ–ІV стадій, яким на першому етапі комбінованого лікування було зроблено операцію; ІІІ група — 20 хворих на РЯ ІІІ–ІV стадій, яким призначали тільки ПХТ (6 курсів) у зв'язку з наявністю протипоказань до оперативного втручання (контроль до даних по виживаності). Сироватка крові практично здорових жінок була контролем при дослідженні концентрації ГАГ у сироватці крові хворих на РЯ. Усіх хворих обстежено з використанням загальноприйнятих клінічних і лабораторних методів. Біохімічні дослідження включали визначення в сироватці крові сумарного вмісту ГАГ та їхніх фракцій (F1, F2, F3) за методикою М.Р. Штерн та співавт., розрахунок співвідношень сумарних ГАГ та їхніх фракцій ($K_1 = \Sigma \text{ГАГ}/F1$; $K_2 = \Sigma \text{ГАГ}/F2$; $K_3 = \Sigma \text{ГАГ}/F3$; $K_4 = \Sigma F2+F3/F1$), визначення карбогідратного антигену СА 125 методом ІФА. Біологічний матеріал для біохімічних досліджень відбирали в найбільш численній підгрупі хворих на РЯ ІІІ–ІV стадій із серозною аденокарциномою (більше 60% хворих).

Зіставлення отриманих даних з результатами клінічних спостережень і даними УЗД в динаміці проведення НПХТ засвідчує, що позитивний клінічний ефект підтверджується відповідними ультразвуковими зображеннями і супроводжується достовірним зниженням сумарних ГАГ, сумарних хондроїтинсульфатів і ІІ (хондроїтин-4-сульфат і дерматан-сульфат) фракції ГАГ порівняно з такими при РЯ до лікування, а також нормалізацією І (хондроїтин-6-сульфат) і ІІІ (гепарин, гепаран-сульфат, кератан-сульфат) фракцій ГАГ. Також виявлено, що зниження сумарних ГАГ від $23,5 \pm 1,50$ до $16,5 \pm 1,40$ г/л після 5–6 курсів НПХТ, а також І і ІІІ фракцій, перебуває в тісному взаємозв'язку зі зниженням вмісту СА 125. Найтісніші кореляційні зв'язки між СА 125, ГАГ та їх фракціями, встановлені при РЯ ІІІ–ІV стадій

до лікування, після 3-х курсів НПХТ ($r = 0,72-0,91$) і 5-6 курсів ($r = 0,84-0,9$). Зниження сумарних ГАГ та сумарних хондроїтинсульфатів (до 75–70%): I і III фракцій до норми, II фракції ГАГ до 25–35%, K1, K2, K3, K4 до норми, СА125 до 9,6–3,6% корелює зі зменшенням пухлинного конгломерату (до 60–20%), метастатичної пухлини у ректо-піхвовій перегородці (до 70–20%), розміру субкапсулярного метастазу у печінці (на 40% й більше) і зникненням асцити.

Використання діагностичного комплексу оцінки ефективності НПХТ хворих на РЯ III–IV стадій дозволяє індивідуально підбирати кількість курсів НПХТ, що сприяє підвищенню ефективності лікування від рівня в групі хворих без операції до рівня результатів в групі з операцією на першому етапі.

АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ ПРОТЕИНОВОЙ ЭКСПРЕССИИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

КОЛЕСНЕВА Е. В., ДУБОВСКАЯ Л. В., ВОЛОТОВСКИЙ И. Д.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск;
kolesneva_kate@mail.ru*

Во многих странах мира, в том числе и в странах СНГ, на лечение рака молочной железы (РМЖ) тратится 95% средств и только 5% — на диагностику. Известно, что лечение РМЖ на ранних стадиях дает реальный шанс на выздоровление. В настоящее время известно, что практически каждое заболевание характеризуется изменениями в протеомном статусе организма. Однако до сих пор, несмотря на активный поиск ученых всего мира, не удалось выявить протеиновые маркеры рака молочной железы, обладающие высокой специфичностью. Поэтому в данной работе была предпринята попытка разработать минимально инвазивную технологию ранней диагностики РМЖ, основанную на анализе профиля протеиновой экспрессии в плазме крови, чтобы идентифицировать маркерные протеины, характерные для данного заболевания.

Основным объектом исследования служили образцы плазмы крови пациентов с клинически установленным РМЖ, пациентов после мастэктомии и здоровых доноров.

С помощью метода двумерного гель-электрофореза обнаружено, что у пациентов с РМЖ происходят значительные изменения в протеиновом составе плазмы крови, проявляющиеся в появлении на протеомных картах пяти новых дополнительных протеинов, отсутствующих на референсной протеомной карте здоровых доноров. Также обнаружено изменение экспрессии пяти присутствующих в норме протеинов. Проведена идентификация ряда протеинов. Среди них обнаружены такие протеины как гаптоглобин альфа1, кластерин, мультимеры транстиретина, С-реактивный протеин, фетуин А.

Показано, что одновременный мониторинг концентраций набора маркерных протеинов в плазме крови является альтернативным информативным способом скринингового обследования пациентов, проведения первичной диагностики и наблюдения за течением РМЖ.

МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ ЛЕПТИНУ НА БІОДОСТУПНІСТЬ ОКСИДУ АЗОТУ В ЕНДОТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИНАХ СУДИН

*КОРДА М. М., ЯВОРСЬКА С. І., ЯРОШЕНКО Т. Я.,
СУСЛОВА Н. О.*

*Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського, Україна;
e-mail: korda@tdmu.edu.te.ua*

Останні дані свідчать про те, що гормон лептин може впливати на судинний тонус, ймовірно, через систему L-аргінін/NO. Було показано, що на мембранах ендотеліальних клітин знаходяться функціонально активні рецептори лептину (Ob-R). Ob-R відносяться до I-го класу цитокінових рецепторів, які можуть діяти через різні шляхи передачі сигналу, включаючи фосфатидилінозитол-3-кіназний каскад.

Високочутливі наносенсиори були використані для вимірювання кінетики утворення NO, супероксиду і пероксинітриту в ендотеліальних клітинах пуповинної вени людини (HUVEC) після їхньої інкубації з різними концентраціями (10 нМ — 10 мкМ) лептину. Клітини обробляли інгібітором ендотеліальної NO-синтази (eNOS) L-NAME та інгібіторами фосфатидилінозитол-3-кінази-вортманіном і LY294002. HUVEC поміщали на предметний столик інвертованого мікроскопа і електрохімічні наносенсиори розташовували поблизу поверхні (5 ± 2 мкм) клітинної мембрани за допомогою мікроманіпулятора. Утворення NO, супероксиду і пероксинітриту клітинами стимулювали рецептор-незалежним агоністом eNOS — іонофором кальцію (CaI). За допомогою вестерн-блот аналізу оцінювали експресію eNOS, Cu/Zn і Mn СОД.

Інкубація HUVEC з лептином призводила до дозозалежного збільшення утворення NO після стимуляції CaI. Найбільший ефект (дворазове підвищення продукції NO) спостерігався у разі концентрації лептину 10 мкМ. Проте, більш вираженим було підвищення експресії eNOS, яка також досягала максимуму (480%) при 10 мкМ лептину. Внаслідок інкубації HUVEC з лептином також збільшилося (в 4 рази) утворення високоокисидативних чинників — супероксиду і пероксинітриту. Це пояснює відносно невелике збільшення біологічно доступного NO порівняно зі значним зростанням експресії eNOS після інкубації HUVEC з гормоном. Інкубація ендотеліальних клітин з лептином не впливала істотно на експресію Cu/Zn і Mn СОД. У присутності L-NAME утворення NO під впливом CaI було заблоковане. За таких умов, ні вортманін, ні LY294002 не змінювали експресію eNOS і продукцію NO після інкубації клітин з лептином.

Отже, короткочасний вплив лептину на ендотеліальні клітини призводить до збільшення біодоступного NO і водночас суттєвої стимуляції утворення супероксиду і пероксинітриту. Цей ефект лептину пов'язаний із значним збільшенням експресії eNOS через незалежні від фосфатидилінозитол-3-кінази сигнальні механізми.

**ВІКОВІ ТА СТРЕСОВІ ЗМІНИ СИСТЕМИ
ОКСИДУ АЗОТУ**

КУЛЬЧИЦЬКИЙ О. К., ПОТАПЕНКО Р. І., НОВІКОВА С. М.

*ДУ «Інститут геронтології ім. акад. Д. Ф. Чеботарьова
НАМН України», Київ;
e-mail: biochem@geront.kiev.ua*

На сьогоднішній день однією з ключових проблем сучасної медицини є проблема системи монооксиду азоту (NO), яка привертає увагу не тільки біологів, але і медиків різних спеціальностей. Це зумовлено роллю, яку відіграє молекула NO у регуляції функціонально-метаболічної активності клітин різних тканин людини і тварин.

Мета роботи — вивчити механізми дії стресових факторів на зміни системи оксиду азоту, рівень пероксидації ліпідів у серці та судинній стінці та їхній взаємозв'язок з порушеннями серцево-судинної системи внаслідок старіння.

Експерименти проведені на щурах двох вікових груп (дорослі, старі). У роботі використані біохімічні та спектрофотометричні методи. Показано, що іммобілізація не призводить до достовірних змін у вмісті стабільних метаболітів NO, активності ензимів та процесів ліпідної пероксидації у крові, судинній стінці і міокарді дорослих тварин. У старих щурів відбувається значне зростання продукування NO: рівень стабільних метаболітів у крові зростає майже у 2 рази. У тканинах аорти вміст продуктів NO зменшується, незважаючи на підвищення активності обох ізоформ NOS, у міокарді — вміст $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ теж знижується за незмінної активності названих ензимів. У старих щурів на відміну від дорослих за іммобілізації суттєво зростає вміст продуктів ліпідної пероксидації (ТБК-АП) у плазмі крові, аорті і міокарді, що може свідчити про розвиток у них оксидативного стресу.

За впливу гострої гіпоксії стрес-реакція щурів більш значна. Рівень NO_3^- суттєво зростає у плазмі крові щурів обох вікових груп, проте у старих залишається більш низьким (майже у 2 рази). Зміни інших показників системи NO мають різнонаправлену спрямованість, що залежить від досліджуваних тканин і віку. В аорті і міокарді дослідних дорослих щурів порівняно з контрольними вміст $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ не змінюється, активність eNOS і iNOS зростає. У старих щурів вміст $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ в аорті дещо збільшується за незмінної активності eNOS і невеликого зростання iNOS, у міокарді, навпаки, рівень $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ зростає за падіння eNOS-активності і стабільної активності iNOS. Наведені результати свідчать про різні механізми зростання рівня стабільних метаболітів NO у крові дорослих і старих щурів за впливу гострої гіпоксії. У дорослих щурів воно відбувається за рахунок активації обох NO-синтаз, у старих — шляхом активації iNOS і “спустошення” фізіологічних депо.

Після дії переривчастої гіпобаричної гіпоксії, продукція NO у організмі дорослих щурів утримується на рівні контрольних, у старих — зростає, сягаючи величин дорослих. У міокарді досліджених дорослих і старих щурів рівень генерації NO забезпечується різними механізмами: у дорослих — конститутивною NO-синтазою, у старих — переважно індукційною формою ензиму. Адаптивні зміни в NO системі відбуваються на тлі активації процесів вільнорадикального окислення ліпідів

і модифікації протеїнів, вираженої у старих щурів значно більшою мірою. Крім того, тривала і значна активація у останніх iNOS у міокарді супроводжується утворенням великої кількості супероксидрадикалів, які посилюють окисний стрес.

РОЛЬ ЕНЗИМІВ МЕТАБОЛІЗМУ У ВІДПОВІДІ ПУХЛИННИХ КЛІТИН НА ДЕФІЦИТ АРГІНІНУ

КУРЛІЩУК Ю. В., БОБАК Я. П., ВИННИЦЬКА Б. О.,
СИБІРНИЙ А. А., СТАСИК О. В.

Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: stasyk@cellbiol.lviv.ua

Голодування за аргініном, викликане за допомогою рекомбінантних аргінін-деградуєчих ензимів, розглядається як потенційний підхід для лікування декількох типів пухлин, зокрема гепатокарцином, меланом, карцином простати та інших. Однак, молекулярні механізми, що зумовлюють чутливість чи резистентність різних пухлин до голодування за окремою амінокислотою, залишаються мало вивченими, що гальмує розвиток відповідної ензимотерапії раку. Одним із можливих факторів, що впливають на відповідь клітин пухлин на голодування за аргініном *in vitro*, є дефекти метаболізму цієї амінокислоти, зокрема пошкодження ензимів циклу сечовини. На моделях культур пухлинних клітин людини різного органного походження нами було проведено системний аналіз експресії генів та відповідних активностей ключових ензимів катаболізму аргініну, а саме – аргінази I і II (ARG1 та ARG2), індукцибельної синтази оксиду азоту (iNOS), аргініндекарбоксилази (ADC), та анаболізму аргініну – орнітинтранскарбамілази (OTC) і аргініносукцинатсинтетази (ASS). Не виявлено чіткої кореляції між рівнем експресії генів метаболізму аргініну та чутливістю пухлинних клітин різних типів до голодування за аргініном. Більш того, усі проаналізовані клітини пухлин (кератиноцитарної карциноми A431, аденокарциноми легень A549, гепатокарциноми HepG2, аденокарциноми молочної залози MCF7, меланом SK-MEL-28, Me Wo, WM115, WM451, карциноми шийки матки HeLa, карциноми підшлункової залози MIA PaCa-2, карциноми яєчників SKOV3) виявили дефект експресії гена OTC та відповідної ферментативної активності, як за стандартних умов, так і за умов голодування за аргініном. Таким чином, нами вперше показано, що нездатність клітин пухлин до біосинтезу аргініну *in vitro* є однією з поширених характеристик, а аргінін повинен розглядатись як незамінна амінокислота для культивованих клітин. Одержані результати свідчать, що ауксотрофність за аргініном є необхідною, але ймовірно недостатньою умовою для забезпечення чутливості пухлин до ензимотерапії на основі рекомбінантних аргінін-деградуєчих ензимів. Будуть також представлені результати досліджень інших метаболічних та сигнальних шляхів, задіяних у клітинній відповіді на дефіцит аргініну та проаналізовано можливість застосування отриманих даних для підвищення ефективності відповідної ензимотерапії онкозахворювань.

ASSESSMENT OF GABAPENTIN ACTION ON BRAIN FUNCTIONAL STATE IN DIABETIC ENCEPHALOPATHY

KUCHMEROVSKA T. M.

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

For a better understanding of biochemical mechanisms underlying diabetic encephalopathy the present study was designed to investigate the functional state of brain in diabetes and elucidate how gabapentin (GP) may potentially regulate its functioning.

Streptozotocin-induced (60 mg/kg of body weight, i.p.) diabetic rats were treated with gabapentin (50 mg/kg, i.p.) for one month following 4 weeks of untreated diabetes. Synaptosomes, synaptosomal plasma membrane (PM) and synaptic vesicles were isolated from rat brain by step-wise centrifugation in a sucrose gradient. Reactive oxygen species (ROS) production was measured quantitatively in synaptosomes using cell permeable dye 2,7-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA). Fusion experiments were performed in the cell-free model system using fluorescent dye octadecylrhodamine B (R18), which was incorporated into SVs membranes at self-quenching concentration. The fusion of SVs, containing marker R18, with target membranes was detected by dequenching of the probe fluorescence. The Ca^{2+} -dependent SVs fusion was carried out on heterotypic and homotypic membrane systems in synaptosomal cytosolic proteins media. PM were overloaded with cholesterol by methyl- β -cyclodextrin (MCD).

Diabetes was shown to be associated with $21.0 \pm 1.8\%$ elevation of Rh123 fluorescence under self-quenching conditions that indicated of PM depolarization. Dysfunctional synaptosomes appear to account for increased formation of ROS, since DCF fluorescence level was $31.3 \pm 2.7\%$ higher in diabetes than in control. It was found that in diabetic rats the rate of SVs fusion with PM in the presence of Ca^{2+} and synaptosomal cytosolic proteins was decreased as it is evident from lowering of fluorescence from 23% in control to 14.5% in diabetes, $P < 0.05$. Reduction in fusion induced by diabetes is likely to be associated with alteration of plasma membrane cholesterol. To verify this idea the PM were overloaded by cholesterol using MCD:cholesterol mixture. It was shown that PM cholesterol level in diabetes was $0.75 \pm 0.07 \mu\text{M}/\text{mg}$ of protein as compared with $0.67 \pm 0.06 \mu\text{M}/\text{mg}$ of protein in control, both $P < 0.05$. After overloading PM by cholesterol its level in control was $0.88 \pm 0.07 \mu\text{M}/\text{mg}$ of protein, $P < 0.05$. The fusion ability of cholesterol-saturated PM was shown to be reduced to the same extent with PM from diabetic brain. The slight opposite effect has been shown in the rate of SVs fusion with each other: in diabetes the fluorescence signal was achieved up to 30% vs 25% in control, $P < 0.05$. Treatment of diabetic rats with gabapentin diminished the diabetes-associated DCF-sensitive synaptosomal ROS production by $26.3 \pm 2.1\%$, $P < 0.05$. Following administration of the drug to diabetic rats the rate of SVs fusion with target membranes was partially normalized.

Thus, diabetes may cause physiologically drastic failure in brain functioning. The changes in membrane fusion may be associated with increased cholesterol content of synaptosomal PM that modifies the structure and function of membrane-bounded proteins and affects membrane fluidity and fusibility. This, together with the antioxidant

action of gabapentin might deserve further investigation for evaluating the link between the observed findings and the clinical effects of the drug for the management of diabetic encephalopathy.

АВТОАНТИТІЛА ПРОТИ НЕЙРОНАЛЬНОГО НІКОТИНОВОГО АЦЕТИЛХОЛІНОВОГО РЕЦЕПТОРА: ПОТЕНЦІЙНА РОЛЬ У РАЗІ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

¹ЛИХМУС О. Ю., ¹КОВАЛЬ Л. М., ²БАЧИНСЬКА Н. Ю.,
³РИБАЛЬЧЕНКО Г. К., ⁴ГРАНОН С., ¹КОМІСАРЕНКО С. В.,
¹СКОК М. В.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Інститут геронтології АМН України, Київ;

³Інститут педіатрії, акушерства та гінекології АМН України, Київ;

⁴Центр нейронаук Університету Орсей, Париж, Франція;

e-mail: elenalykhmus@yandex.ua; skok@biochem.kiev.ua

Хвороба Альцгеймера (ХА) — нейродегенеративний когнитивний розлад, який розвивається у людей похилого віку і супроводжується дегенерацією холінергічних нейронів мозку, зокрема втратою альфа4- та альфа7-вмісних субтипів нікотинового ацетилхолінового рецептора (НАХР). Ми припустили, що причиною зниження кількості НАХР у мозку внаслідок ХА можуть бути НАХР-специфічні автоантитіла, які за певних умов долають гематоенцефалічний бар'єр.

Для перевірки цієї гіпотези мишей лінії C57Bl/6J імунізували позаклітинними доменами альфа4- та альфа7-субодиниць НАХР або вводили їм внутрішньовенно антитіла кроля, специфічні до альфа7-домену. Показали, що такі антитіла можуть проникати у мозок мишей за умов запалення, викликаного застосуванням повного ад'юванту Фрейнда або ін'єкціями бактеріального ліпополісахариду. При цьому миші, які відповідали на імунізацію значною продукцією сироваткових антитіл, демонстрували суттєву кількість таких антитіл і знижену кількість альфа7-вмісних НАХР у мембранах мозку, що супроводжувалось погіршенням їхньої епізодичної пам'яті, визначеної в поведінкових тестах.

Антитіла, здатні зв'язуватися з позаклітинними доменами альфа4- та альфа7-субодиниць НАХР, було знайдено у плазмі крові приблизно 30% хворих на ХА, а також у деяких людей похилого віку без ознак ХА. Подальші експерименти показали, що такі антитіла присутні у крові багатьох здорових дорослих людей. Дослідження експериментальної групи дітей 7–12 років дозволили припустити, що вони утворюються у відповідь на деструкцію тканин, які експресують відповідні субтипи НАХР. Так, значні кількості таких антитіл було визначено у крові дітей із хронічною формою обструктивного бронхіту, що супроводжується руйнуванням НАХР-вмісного бронхіального епітелію. Приймаючи до уваги здатність НАХР-специфічних антитіл проникати в мозок і знижувати там кількість відповідних НАХР, впливаючи на процеси пам'яті, можна припустити, що такі антитіла є одним з патогенних факторів або факторів ризику розвитку ХА, яка часто супроводжується запалювальними процесами.

РАННЯ ДІАГНОСТИКА ТА ЛІКУВАННЯ ПЕРЕДТРОМБОТИЧНИХ СТАНІВ

¹ЛУГОВСЬКОЇ Е. В., ¹КОШЕЛЬ Т. А., ¹ГРИЦЕНКО П. Г.,
²КАЛЬЧЕНКО В. І., ²ЧЕРЕНОК С. О., ¹КОЛЕСНИК Є. О.,
¹КОМІСАРЕНКО С. В.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: lougovskoy@yahoo.com;

²Інститут органічної хімії НАН України, Київ

Більшість тяжких захворювань визиваються чи супроводжуються аномальною активацією системи зсідання крові з утворенням фактора Ха та тромбіну, який перетворює фібриноген у фібрин дезАА. Мономерний фібрин дезАА за рахунок міжмолекулярного зв'язування комплементарних сайтів «А» та «а» полімеризується у протофібрили, які потім перетворюються у фібрили та формують тривимірну сітку фібрину — каркас будь-якого тромбу. Головними задачами боротьби з тромбозами є рання діагностика передтромботичних станів та інгібування різних стадій каскаду системи зсідання крові зокрема утворення трьохмірної сітки фібрину. Головними маркерами перетромботичних станів є розчинний фібрин та Д-димер. Нами розроблені імунодіагностичні тест-системи для кількісного визначення цих маркерів у плазмі крові людини. У якості інгібіторів переважно використовують низькомолекулярні органічні сполуки.

Метою нашої роботи було дослідити вплив низькомолекулярних каліксаренів на полімеризацію фібрину, а також на зсідання плазми крові людини.

Турбідиметричним аналізом було показано, що каліксарен С-192, який містить чотири залишки метиленбісфосфонові кислоти, та його натрієва сіль С-145 специфічно гальмують полімеризацію фібрину з IC_{50} $0,5 \cdot 10^{-6}$ та $2,5 \cdot 10^{-6}$ М відповідно.

Електронна мікроскопія показала, що каліксарен С-192 інгібує побудову протофібрил з мономерних молекул. За допомогою HPLC дослідили утворення комплексу С-192 з пептидом Глі-Про-Арг-Про, який імітує центр полімеризації фібрину «А» (A α 17-19), що бере участь у побудові протофібрил. Отже, інгібуюча дія С-192 відбувається за рахунок блокування вищезгаданого центру. С-192 вдвічі знижував протромбінове відношення та активований частково тромбопластиновий час у плазмі крові людини у разі концентрації С-192 $7,0 \cdot 10^{-5}$ та $1,7 \cdot 10^{-5}$ М відповідно.

Таким чином, вперше показано, що каліксарен С-192 та його натрієва сіль С-145 є специфічними інгібіторами полімеризації фібрину та зсідання плазми крові. Ці сполуки можуть бути використані як основа для розробки нового класу антитромботичних препаратів.

THE DEVELOPMENT OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION DURING CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS OF DIABETES MELLITUS: THE ROLE OF HYPERHOMOCYSTEINEMIA

MILOVANOV H. O., TSUDZEVYCH B. O., SLYVCHUK Yu. I.

*Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;
e-mail: gasika5@rambler.ru*

An important role in the development of complications of type II diabetes mellitus (DM) is played by vascular pathologies – diabetic angiopathies, the emergence of which are supposed to be associated with the development of endothelial dysfunction. The aim of this study was to examine the role of hyperhomocysteinemia in the development of dysfunction of endothelial vessels in patients with type II diabetes mellitus.

To monitor the changes of homocysteine contents in the process of development of endothelial dysfunction, alongside with measurements of homocysteine levels, the dynamics of changes of levels of nitric oxide (NO) and that of total NO-synthase (NOS) activity were investigated.

On the whole, 40 patients were examined: 1st group (control) – persons with normal levels of glycated hemoglobin (<5.9%), whose anamnesis did not reveal either hyperglycemia, or genetic propensity to insulin resistance; 2nd group – patients with diagnosis of type II diabetes mellitus, confirmed on the basis of anamnestic data and in the case of repeated detection of fasting glycemia levels of 7.0 mmol/l and more and of HbA1c level over 7 per cent; 3rd group – patients with type II diabetes mellitus, who developed ischaemic heart disease verified on the basis of clinical, electrocardiographic and biochemical criteria according to the recommendations of European Cardiologists Society; 4th group – patients with ischaemic heart disease having normal levels of glycated hemoglobin (<5.9%). The levels of homocysteine, nitric oxide, total NO-synthase activity and indices of lipidic and carbohydrate metabolism were determined in all patients.

Ethylendiamidetetraacetat (EDTA)-plasma was used as the material for the determination of homocysteine contents. Homocysteine levels were determined by the immune-enzyme technique using the commercial kit produced by Axis Shield, England.

The obtained results showed that patients of the 4th group developed subnormal hyperhomocysteinemia (rated according to D.W. Jacobsen, 1998) with nitrogen levels decreased by 20% and total NO-synthase activity decreased by 25%. Besides, noteworthy is the fact that all patients with type II diabetes mellitus showed a slight hyperhomocysteinemia with high levels of nitric oxide and total NO-synthase activity, while patients with type II diabetes mellitus associated with ischaemic heart disease showed medium hyperhomocysteinemia accompanied by still lower levels of nitric oxide and total NO-synthase activity, as compared with the 2nd group.

Analyzing the results obtained, it can be argued that the mechanism of toxic effect of hyperhomocysteinemia enhances the development of endothelial dysfunction in patients with type II diabetes mellitus, this process being more intensive on the background of lowered levels of nitrites and nitrates in the blood associated with reduced levels of total NO-synthase activity. Such a decrease of total NO-synthase activity seems to be more intensive at high levels of the main cofactor of NOS-tetrahydropterine, which, in its turn,

is brought about by reduced contents of folic acid at the background of administration of some sugar-reducing drugs. Prooxidant properties of homocysteine manifested its auto-oxidation or fermentation, stimulating the formation of hydrogen peroxide, which causes cell damage. It induces oxidative modification of low density lipoproteins and other proteins that are the basis of its proatherogenic influence. Exactly because superoxide radical produces homocysteine blocking nitric oxide (NO)-dependent reaction by converting the latter of peroxynitrite.

ВПЛИВ ГОМОЦИСТЕЇНУ НА СТРУКТУРУ, МЕТАБОЛІЗМ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ ПЛАЦЕНТИ ЛЮДИНИ

¹ОБОЛЕНСЬКА М. Ю., ¹МАРЦЕНЮК О. П., ²МІШЛАНОВА Ш.,
³РОМАНЕЦЬ К. Л.

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;

²Медичний університет, Братислава, Словачія;

³Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

e-mail: m.obolenska@gmail.com

Гомоцистеїн (Нсу) — метаболіт, який знаходиться на перехресті двох метаболічних процесів — метіонінового циклу і шляху транссульфування. Якщо метіоніновий цикл є універсальним для клітин різного типу, то відомості щодо шляху транссульфування обмежені клітинами печінки, слизової кишкового тракту, підшлункової залози і нервової системи. Підвищений рівень Нсу в крові є інтегральним показником зрушень в обох процесах і патогенетичним фактором численних захворювань, серед яких чинне місце займають патології вагітності, зокрема преєклампсія, плацентарна недостатність, вади розвитку нервової трубки плода тощо.

Зважаючи на незаперечну роль плаценти у розвитку акушерської патології, метаболічну активність органа і невизначеність щодо існування в ній процесу транссульфування метою нашої роботи було охарактеризувати вміст амінотіолів, що є компонентами метіонінового циклу і шляху транссульфування, вміст фолатів, експресію генів, які кодують задіяні в транссульфуванні ензими і показники проліферації і апоптозу. Останні процеси притаманні плаценті протягом всього періоду її функціонування.

Дослідження проведено на зразках і експлантах плаценти першого (8–10 тижнів) і третього (38–42 тижні) триместрів вагітності за фізіологічного і ускладненого преєклампсією перебігу. Амінотіоли (Met, Нсу, GSH, Cys) визначали методом РХВТ з електрохімічною детекцією, фолати — мікробіологічним тестом, поліморфізм гена метилентетрагідрофолатредуктази (*MTHFR*) — полімеразною ланцюговою реакцією з наступною рестрикцією; експресію генів, які кодують ензими шляху транссульфування — реакціями зворотної транскрипції і ланцюгової полімеризації (ЗТ-ПЛР), вестерн-блот аналізом і методом імуногістохімії, проліферацію і апоптоз — методом імуногістохімії до Ki67 і M30 антигенів відповідно. Синтез Cys оцінювали за включенням радіоактивного попередника [¹⁴C]L-серину.

За умов преєклампсії, носійства C677T алелів гена *MTHFR* та низького рівня фолатів у плаценті спостерігали зниження вмісту Met, підвищення Нсу та висо-

кий рівень кореляції між вмістом фолатів і амінотіолів, Hcy і Cys у порівнянні з іншими комбінаціями характеру перебігу вагітності і носійства поліморфного гена *MTHFR*.

В плаценті людини вперше виявлено експресію генів, які кодують ензими, що функціонують на шляху транссульфування, а саме: цистатіонін- β -синтазу (CBS) та цистатіонін- γ -ліазу (цистатіоназа, CSE), які каталізують транссульфування Hcy в Cys; цистеїндіоксигеназу (CDO) і цистеїнсульфатдекарбоксилазою (CSAD), які поетапно окислюють Cys до цистеїнсульфінату і декарбоксилують останній до гіпотаурину, попередника таурину. Експресію повнорозмірного протеїну CBS (63 кДа) підтверджено вестерн-блот аналізом з використанням специфічних антитіл і включенням міченого серину в цистатіонін.

Виявлено, що інкубація експлантів першого і третього триместрів вагітності з Hcy активує шлях транссульфування, що водночас знижує індекс проліферації і посилює процес апоптозу.

Фолат-залежний метаболізм у плаценті людини впливає на розвиток акушерської патології.

SIGNALLING PATHWAYS OF APOPTOSIS INDUCED BY NOVEL ANGUCYCLINE ANTIBIOTIC LANDOMYCIN E IN TUMOR CELLS

¹PANCHUK R. R., ²MATSELYUKH B. P., ¹STOIKO R. S.

¹*Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;*

²*Institute of Microbiology and Virology, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: rpanchuk@ukr.net*

Development of novel anticancer drugs capable of overcoming acquired resistance of cancer cells to chemotherapy, presents a relevant challenge for both chemists and oncologists. Landomycin E (LE) is a novel antibiotic of angucycline family produced by *Streptomyces globisporus* 1912 strain growing in soybean medium. We had shown previously, that LE induces apoptosis in tumor cell lines. However, it does not possess DNA-tropic activity, in contrast to classical anticancer drug doxorubicin. In this study, we addressed the molecular mechanisms of LE action towards human Jurkat T cell leukemia line and human breast adenocarcinoma cells of MCF-7 line *in vitro*.

We found that DNA fragmentation (DAPI staining) takes place only 12-24 h after LE treatment of Jurkat cells, while the phosphatidylserine externalization (early apoptotic marker measured by annexin V/propidium iodide assay), was observed as soon as 3 h after the start of LE treatment. Activation of the effector caspases-3,6,7 and subsequent cleavage of their protein substrates PARP-1 and DFF45 was measured by the Western-blot analysis and was observed in 12-24 h of LE treatment. We did not find any changes in the level of procaspase-9 (main trigger of mitochondrial-induced caspase cascade), while the activation of initiator caspases-2,8,10 was observed as early as in 6-12 h of LE treatment. However, much earlier (1 h) in the LE-induced apoptotic pathway was a release of AIF (apoptosis-inducing factor) from mitochondria to cytosol of target cells. Cytochrome C

release from mitochondria was observed only at 12 h of LE treatment. Pan-caspase inhibitor z-VAD-fmk did not demonstrate any effect towards LE-induced cytotoxicity in Jurkat cells suggesting that the LE acts in caspase-independent way. To verify this hypothesis, caspase-3 and 7-deficient MCF-7 cells were used. It was found that LE not only effectively kills these cells, but also causes a rapid increase of active AIF content in the MCF-7 cells after their 24 h treatment with LE. In conclusion, we suggest that LE induces cell death via caspase-independent, AIF-mediated apoptosis. Such mechanism of the antineoplastic action allows this drug to induce apoptosis even in those cells which are deficient in several pro-apoptotic proteins or in cells possessing other mechanisms of cancer drug resistance.

ВИЗНАЧЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНО НЕАКТИВНИХ ФОРМ ПРОТРОМБІНУ ЗА УМОВ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ

¹ПЛАТОНОВА Т. М., ^{1,2}ЧЕРНИШЕНКО В. О., ^{1,2}КОРОЛЬОВА Д. С.,
³ТОМЧУК В. А., ³ГРИЩЕНКО В. А., ³ЛИТВИНЕНКО О. М.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

³Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;

e-mail: platonovatn@gmail.com

Декарбоксильовані форми протромбіну, які накопичуються внаслідок захворювання печінки, фізіологічно неактивні і не здатні активуватися до тромбіну (PIVKA-протромбін). Для визначення PIVKA-протромбіну нами запропоновано два тести: екамуліновий час (ЕЧ) та протромбіновий час (ПЧ). Екамулін – активатор протромбіну з отрути *Echis multisquamatis*, що здатен активувати як протромбін, так і PIVKA-протромбін, тому показник ЕЧ демонструє загальний вміст протромбіну в плазмі крові. Тромбопластин, що використовується у тесті ПЧ, активує лише карбоксильований протромбін, а отже результати ПЧ дають змогу оцінити лише вміст функціонально активного протромбіну. Для оцінки результатів тестів використовували міжнародне нормалізоване відношення для протромбінового тесту – ПВ та для екамулінового – ЕВ. Отже, екамуліново-протромбінове відношення ЕВ/ПВ дає змогу оцінити вміст PIVKA-протромбіну. Метою даної роботи була апробація підходу для визначення PIVKA-протромбіну у випадку медикаментозного гепатиту у щурів.

Досліджено стан системи зсідання крові трьох груп щурів з медикаментозним гепатитом: контрольну групу (без лікування) і дві дослідні групи, яким проводили лікування біологічно активною добавкою БАД FLP-MD та комерційним препаратом «Есенціале-форте». Показано, що в обох дослідних групах вміст карбоксильованого протромбіну, виявлений у тесті ПЧ, та сумарний рівень протромбіну, визначений за тестом ЕЧ, знаходяться у межах норми: $ЕВ=ПВ=1,0\pm0,04$. Отже, функціональний стан печінки у цих групах після лікування відновлено і пов'язані з ним розлади системи гемостазу усунуті.

Однак, у контрольній групі $ЕВ=0,8$, $ПВ=0,4$, що свідчить про те, що медикаментозний гепатит викликає глибокі порушення анаболізму в печінці. Як наслідок,

синтез протромбіну знижується на 20% (за результатом ЕВ), а 50% синтезованого протромбіну функціонально неактивні (ЕВ/ПВ). Таким чином, визначення екамуліново-протромбінового відношення у разі медикаментозного гепатиту у щурів дало змогу оцінити вміст PIVKA-протромбіну у дослідних тварин та діагностувати як захворювання печінки, так і супутні розлади системи гемостазу.

MODULATION OF EXPRESSION OF LEUKEMIC ONCOGENES BY RNA INTERFERENCE

PRASSOLOV V. S.

*Engelhardt Institute of Molecular Biology Russian Academy
of Sciences, Moscow, Russia*

The evaluation of the functional role of oncogenes frequently affected by mutations or chromosomal translocations in acute myeloid leukemia patients is important both for molecular biology and for practical medicine. One of the main approaches for such studies is the transfer and expression of activated oncogenes in cells, both *in vitro* and *ex vivo*, and their targeted silencing by interfering RNAs.

In the present study we have applied the RNAi approach for substantial reduction of *AML1-ETO* and *RUNX1(K83N)* expression, which are frequently found in the leukemic cells. Previously, to express activated oncogenes in the model cell line a set of bicistronic retroviral vectors containing leukemia-related oncogenes and eGFP cDNAs, separated by IRES sequence were constructed. Transgenic cell lines expressing one of the oncogenes together with the fluorescent marker were obtained from mouse fibroblast cell line SC-1 transduced with recombinant retroviruses. The computational analysis was done to select potentially effective sequences targeted to *RUNX1* and *AML1-ETO* genes. We have designed small hairpin RNAs (shRNA) for targeting *AML1-ETO* oncogene and a region close to the 5' untranslated region of mRNA for the mutant *RUNX1(K83N)* oncogene and expressed the shRNAs in lentiviral vectors. The evaluation of the biological activity of shRNAs demonstrated, that 14 days post transduction with shRNA-expressing lentiviral vectors targeting the junction point of *AML1-ETO* mRNA and 5' region of *RUNX1(K83N)* the amount of eGFP expressing SC1-*AML1-ETO* cells decreased 5 and 7 fold respectively, corresponding to control cells, transduced with shRNA expressing lentiviral vectors targeting non-specific sequence. In the SC1-*RUNX1(K83N)* cells effective inhibition of reporter gene expression was observed after transduction of the cells with the same shRNA-expressing lentiviral vectors targeting the junction point of *AML1-ETO* mRNA and 5' region of *RUNX1(K83N)*, but only the shRNA targeting 5' region of *RUNX1(K83N)* revealed the 9 fold reduction of the amount of eGFP. Further, designed shRNA-expressing lentiviral vectors targeting junction point of *AML1-ETO* mRNA and a region close to the 5'- region of *AML1-ETO* mRNA were transduced in Kasumi-1 cells. The RT-PCR analysis demonstrated that 14 days post transduction the amount of *AML1-ETO* mRNA decreases 5 and 9 folds respectively, corresponding to control Kasumi-1 cells, transduced with shRNA expressing lentiviral vectors targeting non-specific sequence.

We report a stable reduction in expression of the oncogenes following the introduction of shRNAs into cells. The developed recombinant lentiviral vectors can be used for the silencing of the expression of leukemia-related oncogenes *in vitro* and *in vivo*.

PI3'-КИНАЗНИЙ СИГНАЛЬНИЙ ШЛЯХ ОПОСЕРЕДКОВУЄ ЗМІНИ У СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОМУ СТАНІ ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ

СИБІРНА Н. О., ЗДІОРУК М. І., БРОДЯК І. В., ДРЕЛЬ В. Р.

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

За умов цукрового діабету (ЦД) 1-го типу особливо важливою є проблема змін функціональної активності лейкоцитів, що робить їх універсальною мішенню та індикатором різних порушень гомеостазу і гемокінезу. Здатність до агрегації лейкоцитів під впливом лектинів, які виступають у ролі молекулярних зондів, може бути використана як модель передміграційної відповіді на хемоатрактантний фактор, що забезпечує механізми таксису нейтрофілів у місця запалення, які часто розвиваються за ЦД. Активація лейкоцитів безпосередньо пов'язана зі станом поверхневих рецепторів та молекул адгезії на цих клітинах, а також із типом трансдукції активуючого сигналу.

Метою даної роботи було з'ясувати функціональні особливості лейкоцитів за умов ЦД 1-го типу шляхом дослідження лектиніндукованої агрегації цих клітин та виявити можливу участь фосфатидилінозитол-3'-кіназного (PI3'K) сигнального шляху у явищі лейкоцитарної агрегації.

Об'єктом дослідження слугували нейтрофільні гранулоцити та лімфоцити периферичної крові здорових донорів і людей, хворих на ЦД 1-го типу.

Для індукції агрегації лейкоцитів використовували лектини зародків пшениці, бузини чорної та акації амурської. У процесі досліджень показано, що агрегаційна здатність нейтрофільних гранулоцитів та лімфоцитів змінюється за умов досліджуваної патології.

Вестерн-блот аналізом показано перерозподіл локалізації p85 α регуляторної субодиниці PI3'K у мембранній та цитозольній фракціях лейкоцитів за умов ЦД 1-го типу. Ці зміни корелюють зі змінами у агрегаційній активності цих клітин. Це можна пояснити участю даного ензиму у сигнальних шляхах, які опосередковують зміни структурно-функціонального стану рецепторного апарату клітин, що в свою чергу регламентує здатність лейкоцитів до агрегації.

Одержані дані можуть слугувати маркерами у разі створення тест-системи для виявлення захворювання на ранніх стадіях.

РОЛЬ ВІТАМІНУ С В МЕХАНІЗМАХ ГАСТРОПРОТЕКЦІЇ

СКЛЯРОВ О. Я., ЖУРОМСЬКИЙ В. С.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: sklyarov@meduniv.lviv.ua*

Антиоксидантна дія вітаміну С у разі виразкового ушкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) включає різні механізми. Серед них недостатньо вивченою є роль NO-синтаз та циклооксигенази -2 (ЦОГ-2).

Метою роботи було дослідження ролі вітаміну С у гастропротективних процесах внаслідок блокування iNOS, ЦОГ-2 та введення L-аргініну за умов виразки шлунка, викликаній введенням адреналіну у щурів.

Дослідження проведені на 60 білих щурах-самцях масою тіла 150–200 г. Моделювання деструктивних ушкоджень СОШ проводили шляхом введення адреналіну (внутрішньочеревинно в дозі 2 мг/кг). Вітамін С (200 мг/кг) вводили внутрішньом'язево за 30 хв до дії адреналіну.

Декапітацію тварин та забір матеріалу для досліджень проводили під уретановим наркозом. У гомогенаті СОШ визначали вміст активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК), нітрит-аніону (NO_2^-), активність NO-синтаз, СОД, каталази. У плазмі крові визначали концентрацію аскорбінової кислоти та L-аргініну.

Показано, що вітамін С проявляє виражену антиоксидантну дію, зменшує ступінь деструктивних ушкоджень, знижує активність iNOS (на 46%, $P < 0,05$), процеси ліпопероксидації (30%, $P < 0,05$), вміст NO (23%, $P < 0,05$) та активність СОД (на 35%, $P < 0,05$), активність cNOS має тенденцію до зростання, концентрація L-аргініну в плазмі крові зростає (107%, $P < 0,01$). Поєднана дія вітаміну С з L-аргініном значно зменшує ступінь ушкоджень СОШ, активність cNOS (24%) та вміст NO (24%), у порівнянні з самотійним впливом вітаміну С. За умов дії вітаміну С на фоні блокування iNOS та ЦОГ-2 незначно зменшується активність NO-синтаз та процесів ліпопероксидації, що свідчать про домінування ефекту вітаміну С.

Введення вітаміну С викликає зменшення активності як cNOS, так і iNOS. Вітамін С, на фоні блокування iNOS та ЦОГ-2, суттєво не впливає на активність NO-синтаз, що свідчить про можливе пригнічення їхньої активності. Одночасна дія вітаміну С з L-аргініном приводила до вираженої цитопротекторної дії, зменшення вмісту нітрит-аніону за рахунок зниження активності eNOS, незначного зростання концентрації L-аргініну у плазмі крові.

HIGH THROUGHPUT SYNTHESIS OF INDIVIDUAL DRUG-LIKE COMPOUNDS

TOLMACHEV A. A., SHIVANYUK A.

Enamine Ltd., Kyiv, Ukraine;

ChemBio Center, Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;

e-mail: a.tolmachev@enamine.net

Modern high throughput screening (HTS) techniques enable fast assessment of biological activity of large libraries of synthetic compounds and finding new hits for rational drug discovery. The screening of individual drug-like compounds excludes ambiguities in the interpretation of biological data and simplifies structure-activity relationship. The synthesis of large collections of individual drug-like compounds is usually hampered by low synthetic feasibility caused by limited capability of predicting synthetic success.

In 2002 we initiated a program for establishing highly efficient combinatorial technology for the synthesis of large collections of individual drug-like compounds from commercially available and synthetically feasible building blocks.

Combination of 24,000 readily available building blocks followed by reactivity, synthetic feasibility, drug likeness and toxicity filtering resulted in 11,377,102 highly feasible virtual structures obeying the Lipinski rule of 5. This technology allows to synthesize up to 22,000 individual drug-like compounds in one month using industrial parallel synthesis procedures. Thirty eight optimized reactions and 54 optimized chemical procedures furnish individual drug-like screening compounds with average 70+ % feasibility. Because of high synthetic feasibility the collection of tangible drug like structures was named Real Database.

The Real Database Technology consists of the following stages:

1. Selection of starting materials (building blocks) suitable for the synthesis of drug-like compounds;
2. Selection of reactions and optimizing their conditions for production and work up procedures of industrial parallel synthesis;
3. Virtual synthesis of compounds based on the selected building blocks and optimized reactions.
4. Synthesis, purification and identification of drug like compounds.

The use of Real Database technology allows to synthesize up to 220.000 new individual drug-like compounds during 1 year with maximum productivity 23.000 compounds a month.

РОЛЬ ПРО- ТА АНТИ-АНГІОГЕННИХ ФАКТОРІВ У ПАТОГЕНЕЗІ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ КИШЕЧНИКА

ТОЛСТАНОВА Г. М., ОСТАПЧЕНКО Л. І.

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

Запальні захворювання кишечника (ЗЗК) — хронічні запалення стінки кишечника невизначеної етіології. Показана роль неконтрольованого ангіогенезу в їх патогенезі. Метою нашої роботи було дослідити роль фактора росту кровеносних судин (VEGF), транскрипційного фактора Egr-1 і порушення балансу між про- (VEGF, PDGF) та анти-ангіогенними (ендостатин) факторами у патогенезі ЗЗК. Дослідження проведені на моделях гострого (йодоацетамід (ЙА)- та 3% DSS-спричинений коліт) і хронічного коліту (ІЛ-10-/- миші). Показано, що значне збільшення експресії протеїну та мРНК VEGF, VEGFR-1 і VEGFR-2 у слизовій оболонці товстої кишки в різний термін ЙА-спричиненого коліту у щурів та ІЛ-10-/- мишей. Введення нейтралізуючого анти-VEGF антитіла (50 мкг/щура, на 3-й та 5-й дні) значно покращувало клінічні та морфологічні ознаки ЙА-спричиненого коліту. Площа уражень була зменшена з 370 ± 140 (фіз. розчин-контроль) та 311 ± 170 (IgG-контроль) мм^2 до 122 ± 57 мм^2 (анти-VEGF антитіло) ($P < 0,05$). Анти-VEGF антитіло ($P < 0,05$) та Src інгібітор PP1 ($P < 0,01$) зменшували проникність кровеносних судин слизової оболонки товстої кишки через VEGFR-2/pSrc-залежний механізм. Egr-1 — потужний трансактиватор експресії проангіогенних факторів у відповідь на гіпоксію, ураження та ін. Встановлено, що значне підвищення експресії протеїну та мРНК Egr-1, його зв'язування з ДНК та взаємодію з іншими транскрипційними факторами PPAR, AP-2, NF-E1, GAS/ISRE, NF- κ B (TF-TF Array-I; Panomics, USA) у слизовій оболонці товстої кишки в різний термін ЙА-спричиненого коліту у щурів. Egr-1-/- та Egr-1+/- миші мали значно зменшену площу ураження товстої кишки ($P < 0,05$) в порівнянні з інтактним контролем на фоні 0,5% ЙА-спричиненого коліту. Рівень VEGF, PDGF та ендостатину збільшується за умов гострого (ЙА-спричинений) та хронічного коліту (ІЛ-10-/- миші) та позитивно корелює зі ступенем ураження товстої кишки. Дефіцит матрикс-металопротеїнази-9 (MMP-9) у MMP-9-/- мишей призводив до значного зниження рівня ендостатину в нормі ($P = 0,002$) та за умов DSS-спричиненого коліту ($P = 0,006$). Щоденне введення ендостатину (2 мг/100 г, двічі на день) вірогідно покращувало ознаки DSS-спричиненого коліту у MMP-9-/- мишей ($P < 0,001$). Отже, вперше встановлено, що VEGF здійснює патогенетичну дію в механізмах ЗЗК за рахунок збільшення проникності кровеносних судин та полегшення інфільтрації запальних клітин. Досліджено роль транскрипційного фактора Egr-1 у механізмах розвитку ЗЗК. Вперше показано порушення балансу між про- та анти-ангіогенними факторами у патогенезі ЗЗК.

**SPINAL MECHANISMS UNDERLYING
DIABETES- AND CHEMOTHERAPY-INDUCED
ALLODYNIA: POTENTIAL FOR NEUROPROTECTIVE
STRATEGIES**

SHYMANSKYY I.

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

Painful neuropathy is a frequent complication of diabetes and most cancer chemotherapy regimens. One of the recent breakthroughs in pain research was the recognition that non-neuronal cells might play an important role in initiating and modulating activity in primary afferent nociceptors. Here we used the animal models of diabetes- and chemotherapy-induced allodynia and performed immunohistochemical staining to determine changes in the numbers and activity of glial cells in dorsal horns of the lumbar spinal cord. As the possible role of melanocortins (MC) in nociception has recently attracted attention in the field, we also focused on an attempt to better define whether MC/melanocortin receptor MC3 (MC3R) system contributes to neuropathic pain by evaluating the therapeutic efficacy of a specific MC3R agonist Dtrp-g-MSH.

It was shown that C57 black mice exhibited severe mechanical allodynia after 4 weeks of streptozotocin-induced diabetes or 2 weeks of daily administration of vincristine sulfate (a model of chemotherapy-induced neuropathic pain). In diabetes, quantification of cell markers Iba-1 for microglia and GFAP for astrocytes revealed extensive activation of microglia in the dorsal horn, whereas a reduction in the number of astrocytes could be seen. Vincristine-evoked allodynia was associated with both microglia and astrocytes activation. Acute intrathecal infusion of Dtrp-g-MSH to vincristine-treated mice reversed neuropathic pain behaviour as early as the first hour after each of two administrations and its effect was maintained for 4 h. Mechanical hypersensitivity returned nearly to the pre-treatment levels in 24 h after agonist infusion. Dtrp-g-MSH administration was shown to decrease the number and activity of microglial cells suggesting involvement of spinal mechanisms of antinociception. Dtrp-g-MSH action was unlikely to be mediated via alterations in the expression of the MC3 receptors as no detectable changes in MC3R immunoreactivity in the dorsal horn were observed compared with vehicle-treated group.

Altogether our data suggest a prominent role for spinal microglia in the persistence of both diabetes and vincristine-evoked allodynia. Melanocortins/MC3R system might be involved in enhanced nociceptive transmission. The findings support the potential use of MC3R agonists to treat chemotherapy-induced neuropathies which deserve further studying in neuropathy associated with diabetes.

СТЕНДОВІ ПОВІДОМЛЕННЯ

ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ МОЗКУ ЩУРІВ В УМОВАХ НІТРОЗУЮЧОГО СТРЕСУ *IN VITRO* НА ФОНІ ЗАСТОСУВАННЯ КСАНТИНОВИХ КСЕНОБІОТИКІВ

АЛЕКСАНДРОВА К. В., БЕЛЕНІЧЕВ І. Ф., БУХТІЯРОВА Н. В., МАКОЇД О. Б.,
БІЛОКОНЬ Л. Є., КРІСАНОВА Н. В., РУДЬКО Н. П., БІЛЕНЬКИЙ С. А.

Запорізький державний медичний університет, Україна;
e-mail: aleksandrovaev.55@gmail.com

Одним з ключових механізмів дії багатьох відомих антиоксидантів-нейропротекторів є їх здатність гальмувати процеси окислювальної модифікації протеїнів (ОМП) та накопичення маркерних карбонільних і карбоксильних продуктів – альдегідфенілгідразонів (АФГ) та кетонфенілгідразонів (КФГ).

Нами був здійснений синтез водорозчинних солей (3-бензилксантиніл-8)метилтіоетанової кислоти та вивчена їхня антиоксидантна активність (АОА). Перспективність даних досліджень полягає в тому, що маловивчені похідні 3-бензилксантину є структурними аналогами відповідних похідних 3-метилксантину, які виявляють виражену антиоксидантну дію.

Дослідження АОА вперше синтезованих похідних по гальмуванню ОМБ (яка викликана реактивом Фентона) показали, що всі сполуки проявляють досліджувану активність і по ступеню зниження АФГ та КФГ перевершують активність еталонів порівняння емоксипіну та тіотриазоліну. Враховуючи роль нітрозуючого стресу в пригніченні активності супероксиддисмутази (СОД) нами проведені дослідження при моделюванні нітрозуючого стресу *in vitro* при додаванні залізо (II) динітрозольного комплексу з цистеїном (500 мкмоль). Відтворений нітрозуючий стрес *in vitro* характеризувався пригніченням активності СОД, а також збільшенням утворення продуктів ОМБ, що реагують з 2,4-динітрофенілгідразиним у супернатанті мозку щурів. Так, активність СОД знижується на 53,7% і підвищується зміст продуктів ОМБ – АФГ на 87,4%, КФГ на 64,1%. Іншим об'єктом деструктивної дії нітрозуючого стресу є антиоксидантні ензими, активність яких пригнічується в результаті утворення нітрозольних комплексів з металами, що входять до складу їхніх активних центрів. Внесення до інкубаційної суміші (перед моделюванням нітрозуючого стресу) сполук, в концентрації 10^{-6} М, призводить до обмеження ушкоджувальної дії агресивних форм закису азоту відносно активності СОД. Всі вивчені сполуки знижували утворення 2,4-динітрофенілгідразонів АФГ і КФГ. Внесення до інкубаційного середовища селективної «пастки» пероксинітри-ту – N-ацетилцистеїну (N-АЦЦ) в концентрації 10^{-6} М знижувало дані показники на 13,7 і 17,7% відповідно. Найбільш важливим моментом у дії сполук даної серії є протекторна активність по відношенню до СОД.

Таким чином можна стверджувати, що антиоксидантна дія сполук, що досліджувалися, реалізується за допомогою протекторної дії відносно СОД та забезпечення її високої активності в умовах нітрозуючого стресу *in vitro*.

**ACTIVITY OF OXYDOREDUCTASE SYSTEMS
AND INTENSITY OF FREE RADICAL PROCESSES
IN OLD RATS' HEART MITOCHONDRIA UNDER EFFECT
OF COMPLEX OF BIOLOGICALLY ACTIVE CONNECTIONS**

¹ANDRIEIEVA G. S., ^{1,2}KUCHMENKO O. B., ²PETUKHOV D. M.

¹National University of Kyiv-Mohyla Academy, Ukraine;

*²Palladin Institute of Biochemistry, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;*

e-mail: parpa@list.ru

Ageing is a physiological process related to the morphological and functional changes in cellular structures, which leads eventually to progressive imbalance of the regulation systems in organism, including hormonal, neuroendocrine, and homeostatic mechanisms.

For today there are a few theories of organism ageing. One of the theories is the free radical theory of ageing, which assumes that ageing is the result of damage to tissue and organs due to the effect of free radicals. It results in changes of pro- and antioxidant balance that cause oxidative stress.

The aim of the present work is to study the effect of complex of precursors and modulator of ubiquinone (CoQ) biosynthesis (α -tocopherol acetate, 4-hydroxybenzoic acid, methionine) on activity of oxydoreductase systems and intensity of free radical processes in the old rats' heart mitochondria.

Adult male white rats aged 6-7 months and old male white rats aged 24 months were administered *per os* complexes of precursors and modulator of CoQ biosynthesis daily for 10 days.

The following changes were observed in heart mitochondria. NADH-CoQ-oxidoreductase and succinate-CoQ-oxidoreductase activities were increased in control old animals in comparison to control young adults. The administration of the abovementioned complex leads to a decrease in this parameter to the level of young adults. The same tendency was observed for the levels of conjugated dienes, TBARS and products of protein oxidation. Administration of the complexes of precursors and modulator of Q biosynthesis led to an increase in CoQ and Vitamin E content in old animals in comparison to old control.

Administration of the complex of biologically active substances leads to correction of age-related changes in coenzyme CoQ content, functioning of mitochondrial electron-transport chain enzyme systems, intensity of lipid and protein free-radical peroxidation in the old rats' heart mitochondria.

МЕХАНІЗМИ ЗБЕРЕЖЕННЯ ФІБРИНОВИХ ДЕПОЗИТІВ ПІД ЧАС ЗАПАЛЕННЯ

АНДРІАНОВА К. С., СЛОМІНСЬКИЙ О. Ю.,
АНДРІАНОВ С. І., ПЕТИК А. В.

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

Характерною ознакою синдрому запалення є локальне утворення фібринових депозитів на стінках судин. Передумовою їхнього утворення є секреція гістаміну; активація імунокомпетентних і тучних клітин; поява або зростання рівнів протеїнів гострої фази запалення; активація ліпооксигенази з утворенням гідроксикислот; секреція медіаторів запалення – ІЛ-1, ІЛ-6 і ФНП; зміна під впливом цих медіаторів фенотипу ендотеліальних клітин з тромборезистентного на тромбопластичний; ініціація тканинним фактором утворення фібрину; міграція за градієнтом ПДФ нейтрофілів з їхньою подальшою дегрануляцією на згустку. Проте потужність плазміноген-плазмінової системи організму надзвичайно велика та значно перевищує сумарну інгібіторну активність плазми крові. Враховуючи наявність у зоні запалення високого рівня активності еластази, у динамічній системі було вивчено вплив на швидкість гідролізу згустку продуктів запалення.

Було встановлено, що гідроксикислоти, утворені внаслідок активації ліпооксигенази, здатні суттєво знижувати швидкість гідролізу згустку, причому поєднання їх з $\alpha 2$ -макроглобуліном (основним інгібітором серинових протеїназ, який належить до так званих протеїнів гострої фази запалення) призводило до суттєвого посилення ефекту. Водночас слід зауважити, що вплив гідроксикислот обумовлено значними змінами структури згустку, фізіологічність яких є досить проблематичною. Натомість продукти еластолізу молекули плазміногену затягують час напівлізису згустку без зміни його структури. Характер інгібування та ефективність впливу кринглових структур і мініплазміногену значно різняться. Гальмування фібринолізу крингловими структурами зафіксовано лише по досягненні порогового рівня з досить швидким виходом на плато насичення, тоді як залежність швидкості гідролізу згустку від концентрації мініплазміногену є лінійною. Такий ефект мініплазміногену був дещо несподіваним, з огляду на те, що у стаціонарній системі мініплазміноген прискорював гідроліз згустку. Найімовірнішим поясненням розбіжностей результатів динамічної та стаціонарної систем є вимивання в умовах реального потоку мініплазміногену та тканинного активатору плазміногену зі згустку.

У разі поєднання кринглових структур та мініплазміногену зафіксовано арифметичну суму сили ефекту. Імовірно таку різницю обумовлено неспівпадінням механізмів гальмування: кринглові структури конкурують з плазмін(оген)ом за місця зв'язування на фібрині, тоді як мініплазміноген – за тканинний активатор.

Отже, результатом діяльності ендотеліальних та імунокомпетентних клітин під впливом медіаторів запалення є створення передумов фіксації фібринових депозитів у судинах. Така фіксація є виправданою з огляду на фізіологічну роль фібрину у регуляції статусу судин, перебігу запального процесу та забезпеченні регенерації ушкодженої ділянки.

РОЛЬ ІНДУКЦІЇ ЦИТОХРОМУ *P*-450 2E1 У РЕАЛІЗАЦІЇ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИХ ЗАСОБІВ У ПЕЧІНЦІ

*АНІСІМОВА С. І., ШАЯХМЕТОВА Г. М., БОНДАРЕНКО Л. Б.,
ВОЛОШИНА О. С., ВОРОНІНА А. К., КАРАЦУБА Т. А.,
БЛАЖЧУК І. С., КОВАЛЕНКО В. М.*

*ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України», Київ;
e-mail: sveta_v_kieve@mail.ru*

Оптимізація застосування протитуберкульозних засобів може бути досягнута лише за умови повного розуміння їх токсичних ефектів на організм. Важливо дати комплексну оцінку стану метаболічних процесів у печінці при застосуванні даних препаратів.

Метою роботи було визначення ролі індукції цитохрому *P*-450 2E1 у реалізації токсичної дії протитуберкульозних засобів (ізоніазиду, піразинаміду, рифампіцину, етамбутолу) у печінці білих щурів за умов їх сумісного введення в терапевтичних дозах.

Введення протитуберкульозних засобів самцям щурів протягом 10 тижнів призводить до зростання активності *n*-нітрофенолгідроксилази у мікросомній фракції клітин печінки майже в 4 рази, збільшення вмісту цитохрому *b*₅ в ендоплазматичному ретикуліумі печінки, підвищення глутатіон-*S*-трансферазної активності та зниження пулу відновленого глутатіону у печінці. При цьому виявлено зростання вмісту різних фракцій холестеролу в мікросомах печінки, а у сироватці крові — збільшення вмісту загального холестеролу, активності аспартатамінотрансферази, лактатдегідрогенази та лужної фосфатази. Особливу увагу слід приділити високому ступеню активації *n*-нітрофенолгідроксилази, що свідчить про значну індукцію цитохрому *P*-450 2E1 та потенційну небезпеку навіть терапевтичних доз застосованих препаратів щодо клітин печінки, а у випадку зниження метаболізуючої здатності останньої, викликаній ураженням, і по відношенню до вторинних органів-мішеней, чутливих до дії хімічних речовин. За цих умов підвищення глутатіон-*S*-трансферазної активності та зниження пулу відновленого глутатіону у печінці вказує також на напруження системи II фази біотрансформації.

Одержані результати свідчать про необхідність корекції токсичної біотрансформації протитуберкульозних лікарських засобів, що сприятиме оптимізації їхнього застосування у схемах лікування туберкульозу.

КОМПЛЕКС БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ТА СЕЧІ В ДІАГНОСТИЦІ ЗАГРОЗИ РОЗРИВУ АНЕВРИЗМИ АОРТИ

БАБАЄВА О. І., КНЯЗЄВА М. В.

*Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна;
Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, Україна;
ГО «Нове мислення у медицині», Україна;
e-mail: marina_k@tnss.kharkov.ua*

Важким ускладненням розвитку аневризми аорти (АА) є її розрив, чого можна запобігти шляхом операції. Рішення про операцію приймаються на підставі результатів інструментальних методів дослідження, які дозволяють виявити посилене збільшення АА і прогнозувати її розрив тільки за 3 місяці до цієї події та не дають можливості прогнозувати розрив малих аневризм. Більш актуальним підходом до діагностики розриву АА є реєстрація метаболічних змін в крові хворих та виявлення біохімічних маркерів розриву. Відомо, що розвиток АА супроводжується значними змінами гомеостазу, зокрема сполучної тканини стінки судин, і агрегатного стану крові, в чому бере участь фібринолітична система та пов'язаний з нею фібрoneктин. Тому метою даної роботи було визначення можливості розробки діагностичного комплексу загрози розриву АА на підставі вивчення закономірностей змін біохімічних компонентів сполучної тканини, фібринолітичної системи і фібрoneктину та ступеня їх взаємозв'язку у хворих з АА порівняно з контрольними групами. Обстежено 106 хворих віком 46–76 років, а також 29 практично здорових осіб. Для діагностики аневризми черевної аорти (АЧА) використовували УЗД. Всі хворі були поділені на 3 групи: 23 хворих з АЧА із симптомами загрози розриву (перша група), 43 хворих з атеросклерозом підвздошного сегмента (синдром Лериша (СЛ), друга група), 40 хворих із облітеруючим атеросклерозом (АС) нижніх кінцівок (третья група). Всі обстежені — особи чоловічої статі.

Одержані результати показали, що визначення показників сполучної тканини (оксипроліну і уронових кислот у сечі, сумарних глікозаміногліканів (ГАГ) сироватки крові та їхніх фракцій, сумарних хондроїтинсульфатів (Х-S), глікопротеїнів (ГП), фібрoneктину (ФН) і фібринолітичної системи, часу лізису еуглобулінів (ЧЛЕ), концентрації фібриногену (Фг), коефіцієнта лізису (КЛ), активності плазміногену, вмісту розчинних фібринмономерних комплексів (РФМК), продуктів деградації фібрину/фібриногену (ПДФ) в біологічних рідинах дозволяє дати комплексну біохімічну характеристику стану стінки аорти і гемостазу при АА з загрозою розриву. На підставі результатів кореляційного аналізу математично підтверджено тісний взаємозв'язок між цими показниками. Виявлено однакову спрямованість змін метаболітів екстрацелюлярного матриксу сполучної тканини у хворих трьох клінічних груп на фоні нормального рівня вмісту сумарних ГАГ у сироватці крові спостерігався перерозподіл фракцій ГАГ у бік збільшення I і зниження II і III, а також підвищення вмісту сумарних Х-S і ГП. У разі АА встановлено максимальне, порівняно з контролем, підвищення Х-6-S. Одним з показників, що дозволяють диференціювати клінічні групи, є співвідношення сумарних ГАГ і сумарних Х-S, а також відношення вмісту I і II фракцій ГАГ до III фракції. Величина цих кое-

фіцієнтів 71 ± 6 і $8,6 \pm 1,2$ відповідно, виявлені при АА із загрозою розриву і відбивають такий стан стінки аорти, коли вона володіє найменшою міцністю і еластичністю. В нормі значення цих коефіцієнтів становлять 121 ± 6 і $3,47 \pm 0,4$. У випадку СЛ виявлено підвищення вмісту оксипроліну і зниження вмісту уронових кислот у сечі хворих, чого не спостерігалось при АА і АС. У хворих з АА в сироватці крові виявлено максимально підвищені порівняно з контролем рівні Фг, ФН, ПДФ на тлі зниження фібринолітичної активності і вмісту РФМК.

Таким чином, враховуючи вищевикладене, комплекс перелічених біохімічних показників можна розглядати як допоміжні критерії для прогнозування розриву АА.

Г-ГЛУТАМІЛТРАНСФЕРАЗА ЯК ДІАГНОСТИЧНИЙ ЕНЗИМ СТАНУ НИРОК ТА ПЕЧІНКИ ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗІ

БАБІЙ С. О., ДЬОМШИНА О. О., ШТЕМЕНКО Н. І.

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

Нефро- та гепатотоксичну дію цис-платини пов'язують з порушенням функціонування мітохондрій внаслідок блокування I і IV комплексів дихального ланцюгу, зниження активності глутатіонредуктази, зв'язуванням глутатіону, збільшенням утворення активних форм кисню та активацією пероксидного окислення ліпідів. Одним з маркерів ушкодження цих органів є ензим γ-глутамілтрансфераза (ГГТ). В проведеному дослідженні було визначено активність ГГТ в плазмі та еритроцитах крові щурів в умовах моделі *in vivo* за розвитку видоспецифічної пухлини — карциноми Герена Т8 та у разі корекції даного патологічного стану комплексними сполуками ренію (III) з органічними лігандами разом з цис-платиною (система реній-платина).

За умов розвитку карциноми Герена Т8 активність ензиму в плазмі крові щурів знижується на 29,2%, тобто в 1,5 рази. Очевидно, що це є наслідком ушкодження мембран клітин, на яких у великій кількості локалізований ензим, а саме: нирковий кортекс, епітеліальні клітини ниркових каналців, гепатоцити та еритроцити. В еритроцитах також відбувається збільшення ГГТ на 63,3%, тобто майже в 3 рази. Можливо, це викликано прискореним розкладом глутатіону і прискоренням транспорту амінокислот у клітинах крові. У нормі коефіцієнт активності плазма/еритроцити становить 4:3, а при розвитку досліджуваної патології майже 1 : 3. У разі застосування системи спостерігалось зниження активності ГГТ в еритроцитах. В середньому активність ГГТ стала нижче ніж в контрольній групі на 41,67%, тобто майже в 2 рази. Одночасно з цим, в плазмі крові спостерігалось збільшення активності ГГТ на 20% і середні показники активності ензиму наближались до норми. В результаті, співвідношення активності ензиму у плазмі і клітинах крові при використанні системи реній-платина становило 7:5, що наближається до нормального співвідношення.

Якщо порівнювати отримані дані зі змінами активності інших діагностичних ензимів (аспартатамінотрансaminaза, аланінамінотрансaminaза, лужна фосфатаза, лактатдегідрогеназа), то активність ГГТ найкраще віддзеркалює глибину ушкодження організму при розвитку пухлини та ефективність терапевтичних заходів.

Одержані дані підтверджують позитивний лікувальний ефект системою реній-платина та доцільність застосування ГГТ у якості діагностичного параметру стану нирок та печінки.

ЛІПІДНИЙ СПЕКТР СИРОВАТКИ КРОВІ У ХВОРИХ ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ ЗА ЙОДНОГО ДЕФІЦИТУ ТА КОРЕКЦІЯ

¹БАЛІНТ Л. І., ¹РОСТОКА Л. М., ²ТУРЯНИЦЯ І. М.

¹Ужгородський національний університет, Україна;

²Словацький сільськогосподарський університет, Німра;
e-mail: Rostoka@yandex.ru

Метою дослідження було вивчення показників ліпідного обміну у хворих ішемічною хворобою серця (ІХС) в умовах екологічної йодною недостатності загальноприйнятому лікуванні в комбінації з симвастатином та їх корекції йодвмісною гарбузовою олією.

Обстежено 25 пацієнтів з діагнозом: ІХС; стенокардія напруги; ФК II-III; кардіосклероз атеросклеротичний; гіпертонічна хвороба II-III; серцева недостатність II А, які проживають в Закарпатті — біогеохімічному регіоні з екологічно зумовленим йодним дефіцитом. Перша група хворих одержувала загальноприйняте лікування з використанням симвастатину в дозі 20 мг/добу на протязі обстеження; друга група хворих — таке ж саме лікування в комбінації з йодвмісною гарбузовою олією в дозі 10 мл/добу, що містить 200 мкг органічно зв'язаної форми йоду. Рівень холестеролу (ХС), тригліцеридів (ТГ), ліпопротеїдів високої та низької щільності (ЛПВЩ, ЛПНЩ) крові, а також сироваткових трансaminaз визначали за допомогою тест-наборів (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) через 10 діб, 1 та 2 місяці лікування.

Показано, що симвастатин — ефективний та безпечний холестеринзнижуючий препарат у хворих ІХС, який вже через 2 місяці використання призводить до зниження рівня ХС на 23 та ЛПНЩ на 42%. Комбінація симвастатину з йодвмісною гарбузовою олією виявляється більш ефективною, що призводить до достовірного зниження рівня ХС на 19, ЛПНЩ на 27%, коефіцієнту атерогенності в 4,7 раза та, що особливо цінно, достовірному підвищенню рівня антиатерогенних ЛПВП в 2,6 раза, які значно гірше піддаються корекції, ніж атерогенні ЛПНЩ. Важливим є й те, що за умов такої комбінації знижується рівень сироваткових трансaminaз, на відміну від їхнього зростання у першій групі хворих, що вказує на гепатопротекторний ефект йодвмісної гарбузової олії та зниження побічної дії симвастатину, вірогідно, за рахунок антиоксидантної дії омега-3 поліненасичених жирних кислот. Водночас в результаті лікування покращується загальний клінічний стан хворих обох груп, що більш виражено у пацієнтів за умов комбінації лікування з йодвмісною гарбузовою олією, вірогідно, за рахунок нормалізації йодно-тиреоїдного статусу і загального метаболізму.

**BIOLOGICAL ROLE OF ADAPTER PROTEIN RUK/CIN85
IN HUMAN CERVICAL ADENOCARCINOMA**

¹BASARABA O., ¹PASICHNYK A., ¹GERASHCHENKO D.,
¹KOZLOVA N., ²BOBAK Ya., ²SHUVAYEVA G.,
³VOLODKO N., ¹DROBOT L.

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

²*Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;*

³*Lviv National Medical University, Ukraine;
e-mail: olgabasaraba@gmail.com*

Uterine cancer is a disease characterized by tumor-specific mutations and dysregulated signalling pathways. The characterization of molecular alterations in each single tumor is the basis for the development of personalized anticancer therapy. Adaptor/scaffold proteins are the key components of signalling networks involved in the control of cell physiology. In particular, by binding to numerous effector proteins adaptor/scaffold protein Ruk/CIN85 assembles multimeric complexes implicated in regulation of multiple cellular functions, including proliferation, adhesion, invasion, and survival.

Ruk/CIN85 expression in uterine tumors as well as conditionally normal tissues was analyzed using Northern- and Western-blot analyses. Serum-starved human cervical cancer HeLa cells were treated with 5 α -dihydrotestosterone (DHT). Involvement of Ruk/CIN85 full-length form in rapid nongenomic effects of androgen was studied using Western-blot analysis, immunoprecipitation and confocal microscopy.

An increase of Ruk/CIN85 mRNA and protein expression levels was revealed in uterine tumors as compared to conventionally normal surrounding tissues. The characteristic feature of Ruk/CIN85 forms expression patterns in control tissues as well as in benign tumors was a high content of high-molecular-weight Ruk/CIN85 forms (140 and 130 kDa), while an increase in the content of low-molecular-weight forms (40 and 30 kDa) was observed in samples of malignant tumors.

For the first time, androgen receptor was identified in human cervical cancer HeLa cells. It was established that the content of full-length Ruk/CIN85 form in Triton-X-100-soluble fraction of untreated human cervical adenocarcinoma HeLa cells in logarithmic growth phase was very low, whereas stimulation of cells with DHT resulted in its up-regulation. DHT-dependent complex formation between Ruk/CIN85 and androgen receptor as well as the role of Ruk/CIN85 in rapid non-genomic effects of androgen receptor were revealed using confocal microscopy, immunoprecipitation and Western-blot analysis.

The obtained results suggest that up-regulation of full-length form expression level as well as involvement of Ruk/CIN85 in rapid nongenomic effects of androgen might contribute to uterine carcinogenesis.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА CD14 У БОЛЬНЫХ
ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ**

БЕЛОГЛАЗОВ В. А., КУЛАГИНА В. В., МАЛЫЙ К. Д.

*Крымский государственный медицинский университет
им. С. И. Георгиевского, Симферополь, Украина;
e-mail: kdmaly@mail.ru*

Патогенез диффузного токсического зоба в определенной мере зависит от присутствия липополисахаридов бактериальной стенки, в связи с чем полиморфные особенности липополисахарид-распознающих рецепторов могут влиять на характер течения данной патологии. Целью нашей работы и явилось исследование генетического полиморфизма гена протеина CD14 — одного из таких типичных липополисахаридных рецепторов макрофагов. Исследовалась частота нуклеотидной замены С(-159)Т в группе больных диффузным токсическим зобом по сравнению со здоровыми донорами. Данная мутация в промоторной области гена рецептора влияет на экспрессию растворимой формы рецептора, воздействуя на интенсивность иммунного ответа.

Обследовано 15 пациентов с диффузным токсическим зобом (ДТЗ) и длительностью заболевания от 1 месяца до 10 лет. ДНК выделяли из периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции. С(-159)Т-полиморфизм определялся с помощью полимеразной цепной реакции (набор SNP экспресс CD14 С-159Т, Литех, Россия). Результаты амплификации определяли методом электрофореза в агарозе. Наблюдаемые частоты встречаемости С159 или Т159 генетических вариантов исследуемого фрагмента гена CD14 у больных и здоровых доноров проверяли на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга по критерию χ^2 .

Частота встречаемости аллели Т у пациентов, страдающих ДТЗ, оказалась достоверно выше, чем у здоровых доноров. При сравнении частот встречаемости аллельных сочетаний обнаружено, что у доноров в норме в популяции встречается в основном смешанная форма СТ, с большей распространенностью аллели С, при достоверном снижении частоты встречаемости аллельных сочетаний СТ и особенно ТТ, т.е. закон Харди-Вайнберга для этих аллельных сочетаний у доноров не сохраняется. Сравнение частот аллельных сочетаний между больными и донорами также обнаруживает взаимосвязь аллельного сочетания ТТ с развитием ДТЗ.

Таким образом, замена С на Т в данном участке промоторной области гена CD14 (предположительно сайт связывания фактора транскрипции sp1) усиливает транскрипцию и увеличивает синтез растворимой формы рецептора. В то же время, это приводит к возможному увеличению чувствительности иммунной системы к присутствию в крови бактериальных липополисахаридов, что влияет как на развитие инфекционного процесса, так и на вероятность аутоиммунного поражения щитовидной железы.

ПРОТЕКТОРНІ ВЛАСТИВОСТІ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОПІКУ У ЩУРІВ

БЕРДИШЕВ А. Г., ГУЛА Н. М., ЧУМАК А. А.,
КІНДРУК Н. Л., ЖУКОВ О. Д.

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

Нами вперше досліджено вплив ендоканабіноїду N-стеароїлетаноламіну (NSE) на вміст 11-оксикортикостероїдів (11-ОКС), цитокінів TNF α , IL-1, IL-6 та вільних амінокислот (АК) в плазмі крові й печінці щурів-самців за експериментального опіку. Після нанесення термічного опіку шкіри III ступеня щури протягом 7 діб щоденно отримували водну суспензію NSE *per os* в дозі 10 мг/кг маси тіла, або на опікову поверхню у вигляді суспензії з концентрацією 10 мг/мл води та у їхній комбінації.

Встановлено, що на 8-й день після опіку в крові щурів на 35% підвищується рівень 11-ОКС. За цих же умов рівень TNF α збільшується на 75%, IL-1 — на 600%, IL-6 — на 112%. За дії NSE *per os* в дозі 10 мг/кг маси тіла рівень 11-ОКС підвищується тільки на 10%, а вміст всіх досліджуваних цитокінів залишається на рівні інтактних тварин. Також за опіку в плазмі крові знижується (на 40%) та в печінці підвищується (на 50%) сума вільних АК. В плазмі крові й печінці тварин з опіком зростають величини відношення phe/tyr (індикатор множинної системної дисфункції органів) і gly/val (маркер дефіциту протеїну) та знижується відношення Fischer ((ile+leu+val)/(phe+tyr) — показник дисфункції печінки). За дії NSE за всіх способів використання всі вищеназвані показники залишаються на рівні інтактних тварин.

Відомо, що за великого опіку в організмі одночасно з підвищенням рівнів прозапальних цитокінів відбувається посилення метаболізму глюкози. Також підвищуються рівні кортизолу та катехоламінів, що зумовлює гіпоглікемію та інсулінорезистентність. Все це веде до використання протеїнів як основного джерела енергії і дисбалансу вмісту вільних АК. Таким чином, NSE діє як сполука з протекторними властивостями, впливаючи на початкові етапи відповіді організму на опік, внаслідок чого вміст вільних АК у плазмі крові і печінці щурів з опіковою раною не зазнає таких змін, які спостерігаються у нелікованих тварин. Одержані дані дозволяють припустити, що фармакологічні препарати, створені на основі NSE, можуть знайти широке використання для корекції і лікування різних патологічних станів, що супроводжуються гіперпродукцією глюкокортикоїдів, прозапальних цитокінів та дисбалансом вмісту вільних АК, в тому числі і за опіку.

ВИКОРИСТАННЯ КАЛЬЦИТОНІНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ СТРУКТУРНИХ ЗМІН В КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ СКЕЛЕТУ ЗА УМОВ ЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА НЕДОСТАТНОСТІ ГОНАД

БІЛЕЦЬ М. В., ТАРАСЕНКО Л. М.

*Вищий державний навчальний заклад України «Українська
медична стоматологічна академія», Полтава;
e-mail: bilec_marina@mail.ru*

Кальцитонін володіє гальмівним впливом на активність остеокластів, тому використовується як інгібітор кісткової резорбції, особливо для корекції остеопоротичних змін в кістковій тканині (КТ) хребта. Результати досліджень відносно ефективності дії кальцитоніну на інші ділянки скелету досить суперечливі. Досить обмежені дані з приводу використання кальцитоніну у разі патологічних змін у різних відділах скелету.

Мета даної роботи — дослідити можливість використання кальцитоніну для корекції структурних змін у кістковій тканині різних відділів скелету (нижня щелепа, стегнова кістка, хребці) за умов емоційного стресу, недостатності гонад та їхнього сполученого впливу.

Експерименти виконані на 177 статевозрілих щурах Вістар обох статей. Емоційний стрес (ЕС) відтворювали за методом Є. А. Юматова, недостатність гонад (НГ) — за методом Я. Д. Кіршенבלата. Корекцію кальцитоніном проводили напередодні моделювання ЕС введенням підшкірно препарату кальцитоніна лосося «Міакальцик» (0,2 мкг/кг) (Novartis, Швейцарія). В кістковій тканині визначали показники мінеральної фази (кальцій, фосфор, їхнє співвідношення) та органічного матриксу (вуглеводні похідні глікопротеїнів: фукоза, N-ацетилнейрамінова кислота; та протеогліканів: гексуронові кислоти, фракції глікозаміногліканів).

Нами встановлено, що поєднана дія ЕС та НГ, на відміну від парціальної дії, підсилює структурні зміни в КТ різної локалізації (особливо в нижній щелепі) та її резорбцію, про що свідчить максимальне підвищення вмісту вуглеводних похідних неколагенових протеїнів, співвідношення органічного та мінерального компонентів КТ, а також зменшення рівня кальцію та фосфору. Корекція метаболічних змін у різних відділах скелету кальцитоніном за допомогою препарату «Міакальцик» за умов ЕС, НГ та їхньої поєднаної дії сприяла нормалізації вмісту гексуронових кислот та N-ацетилнейрамінової кислоти, хондроїтин-сульфатів та гіалуронової кислоти.

Таким чином, кальцитонін ефективно усуває структурно-метаболічні розлади у різних ділянках скелету, ініційовані емоційним стресом та недостатністю гонад, здійснюючи антирезорбтивний вплив на ці ділянки скелету.

ПАТОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ЭРИТРОЦИТОВ И ДИСМЕТАБОЛИЧЕСКИЕ СДВИГИ В СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

БОРЗЕНКО Б. Г., МИРОНОВА К. О., ЗУЙКОВ С. А., ДУДИН А. М.,
БОГАТЫРЕВА Е. В., ЖУРАВЕЛЬ Т. А.

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

Цель — определить взаимосвязь между изменениями в обмене эритроцитов и в тканях слизистой оболочки желудка (СОЖ) у пациентов с язвенной болезнью (ЯБ) различной степени тяжести. Исследованы особенности активности энзимов энергообмена эритроцитов — аденозиндезаминазы (АДА), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и их активность в СОЖ. Результаты спектрофотометрического определения их активности у 35 пациентов сопоставлены с эритроцитарными показателями контрольной группы одного возраста. Патохимические сдвиги в клетках крови были связаны с тяжестью ЯБ. При неосложненном течении ЯБ (1 группа) активность АДА — $9,45 \pm 1,57$ (контроль — $14,09 \pm 1,55$ нмоль/мин·мг, $P < 0,05$), а при осложнениях ЯБ (2 группа) — $4,84 \pm 1,06$ нмоль/мин/мг ($P < 0,001$). ЛДГ в 1-ой группе ЯБ — $3,16 \pm 0,70$, а во 2-ой группе — $4,28 \pm 0,56$ нмоль/мин/мг ($P > 0,05$; контроль — $2,73 \pm 0,34$, $P < 0,05$). В СОЖ в 1 группе ЯБ активность АДА $7,57 \pm 2,05$, во 2 группе ЯБ — $9,15 \pm 1,28$ нмоль/мин/мг ($P > 0,05$). ЛДГ — $11,33 \pm 3,05$ и $20,08 \pm 2,96$ нмоль/мин·мг ($P < 0,05$). Установлена корреляция эритроцитарных сдвигов с изменениями активности энзима анаэробного гликолиза в СОЖ, которая, возможно, связана с дисфункцией эритроцитов и нарастанием гипоксических процессов в слизистой желудка.

КВЕРЦЕТИН ПОПЕРЕДЖУЄ РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В СЕРЦЕВОМУ М'ЯЗІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ, ІНДУКОВАНОЇ ВИСОКОФРУКТОЗНОЮ ДІЄТОЮ

БОРІКОВ О. Ю., ТАРАН К. В., СТЕПАНОВА А. В., ЗВЯГІНА Т. В.

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

Епідеміологічні дослідження, які були проведені у різних країнах світу, переконливо довели, що поширеність серцево-судинних захворювань та смертності внаслідок кардіо-васкулярних катастроф на межі ХХ та ХХІ століття є наслідком змін стилю життя людей за умов економічного зростання суспільства. Ці зміни насамперед полягають у споживанні висококалорійної їжі на тлі зниження фізичної активності, що призводить до енергетичного дисбалансу в клітинах, мітохондріальної дисфункції та порушення окисно-відновлювального гомеостазу. Сьогодні велика увага приділяється дослідженню рослинних флавоноїдів, як потенційних

засобів для профілактики та терапії патологій, які супроводжуються розвитком оксидативного стресу.

Метою роботи було дослідження впливу профілактичного введення кверцетину на окисно-відновлювальний гомеостаз в серцевому м'язі щурів за умов інсулінорезистентності, індукованої високофруктозною дієтою (ВФД).

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар з масою 180–200 г. Синдром інсулінорезистентності відтворювали за допомогою хронічного споживання високих доз фруктози (200 г/л з питною водою *ad libitum* протягом 8 тижнів). Кверцетин застосовували *per os* у дозі 50 мг/кг маси тіла з першого дня експерименту протягом 8 тижнів. Контрольна група за аналогічною схемою отримувала плацебо.

Внаслідок проведення внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози було виявлено суттєве зниження толерантності до вуглеводів у щурів, які отримували фруктозу разом з плацебо. Зменшення коефіцієнта чутливості до інсуліну в даній групі також підтверджує розвиток інсулінорезистентності.

Встановлено, що ВФД спричиняє підвищення рівня дієнових кон'югатів в гомогенаті серця, тоді як при введенні кверцетину відмічали суттєве зниження даного показника. Інтенсифікація пероксидного окислення ліпідів в серці за умов синдрому інсулінорезистентності також супроводжувалася зниженням вмісту відновленого глутатіону та активності антиоксидантних ензимів — СОД і каталази в порівнянні з інтактним контролем. В той же час, у тварин, які отримували кверцетин, всі досліджені показники системи антиоксидантного захисту не відрізнялися від контрольної групи. Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що застосування кверцетину гальмує розвиток синдрому інсулінорезистентності та оксидативного стресу в серцевому м'язі, що обґрунтовує перспективність його застосування з метою профілактики серцево-судинної патології у осіб з групи ризику.

ЛЕКТИНОТИПУВАННЯ ПОВЕРХНЕВИХ ГЛІКОКОН'ЮГАТИВ МОНОНУКЛЕАРНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ

¹БРОДЯК І., ¹ПЕРЕТЯТКО Ю., ¹ФЕРЕНЦ І.,
²ДЮК М., ¹СИБІРНА Н.

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;

²Інститут імунології та експериментальної терапії
імені Людвіга Гіршвельда, Вроцлав, Польща;
e-mail: iryna_brodyak@yahoo.com

Глікопротеїнові рецептори та молекули адгезії забезпечують контакт між клітинами, підтримують цілісність тканин, міграцію лейкоцитів, взаємодію клітин у процесі імунних реакцій. Вуглеводспецифічні взаємодії у регуляції клітинних функцій є дуже важливими, тому що лейкоцити крові експресують велику кількість глікокон'югатів. Для характеристики структурно-метаболических перебудов олігосахаридних ланцюгів глікопротеїнів і гліколіпідів на поверхні клітин використовуються лектини рослин із відомою вуглеводною специфічністю.

Метою роботи було підібрати оптимальні умови лектинофенотипування моноклеарів з використанням мікропланшетного спектрофотометра, а також дослідити перерозподіл і структурні зміни у глікопротеїнових рецепторах моноклеарів периферичної крові здорових донорів та хворих на цукровий діабет 1 типу. В роботі було використано лектини: RCA, SBA, WGA, SNA, MAA, LCL, PNA.

Підібрано оптимальні умови зв'язування біотинільованих лектинів із фіксованими на поверхні мікропланшетних лунок моноклеарними лейкоцитами: кінцева концентрація клітин на одну лунку 30 тис., концентрація біотинільованого лектину 1–2 мкг/мл, а час фосфатазної реакції 20–30 хв. У здорових донорів спостерігали зростання специфічної взаємодії лектинів RCA і PNA з поверхневими глікокон'югатами клітин крові. Менш виражені показники зв'язування отримали у разі використання WGA, SNA, MAA, а найнижчі – для LCL і SBA. За умов цукрового діабету 1 типу рівень взаємодії моноклеарних клітин периферичної крові з лектином WGA і SNA зростав, що може свідчити про виражений кількісний перерозподіл сіалових кислот у структурі глікопротеїнових рецепторів. Внаслідок даного захворювання виявляється зниження показників лектинзв'язуючого аналізу із використанням мікропланшетного спектрофотометра для лектинів RCA, SBA, LCL. Перерозподіл вмісту і структурні зміни у глікопротеїнових рецепторах моноклеарів периферичної крові за умов цукрового діабету 1 типу, можливо, відображає один з механізмів активації моноклеарних лейкоцитів, що може бути також пов'язано з гіперглікемією. При діабеті за наявності метаболічних, гемореологічних, гемодинамічних порушень вказані процеси наростають, сприяючи більш інтенсивній агрегації та адгезії клітин до стінок судин. За допомогою цих біохімічних показників можна не лише оцінювати субактивацію і адгезивну здатність клітин, але і прогнозувати розвиток ускладнень цукрового діабету.

Дослідження були підтримані грантом УНТЦ, проект № 4281, 2008-2010 рр.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІПІДНОГО СПЕКТРА КРОВІ ТА ПРОДУКЦІЇ ЛЕПТИНУ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ З ОЖИРІННЯМ ТА ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ І ТИПУ

*БУДРЕЙКО О. А., КАШКАЛДА Д. А., НІКІТИНА Л. Д.,
ФІЛІПОВА Н. В., ЧУМАК С. О., ЧЕРЕВАТОВА С. Х.*

*ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України», Харків;
e-mail:iozdp@ukrpost.ua*

Мета роботи – визначення змін показників ліпідного спектра крові та рівня лептину у дітей та підлітків з ожирінням та цукровим діабетом (ЦД) І типу в залежності від наявності інсулінорезистентності.

У роботі використовували такі методи дослідження: рівень глюкози (Г), загального холестеролу (ЗХС), ХС ліпопротеїдів низької щільності (ХСЛПНЩ), дуже низької щільності (ХСЛПДНЩ), високої щільності (ХСЛПВЩ), тригліцеридів (ТГ), інсуліну (І), лептину, коефіцієнту атерогенності (КА). За індексом НОМА (ГІ/22,5) визначали інсулінорезистентність (ІР). Обстежено 332 дітей та підлітків

7–18 років з ожирінням (202) і ЦД 1 типу (130). Групу контролю склали 28 практично здорових однолітків.

Аналіз показників ліпідного спектра крові у дітей та підлітків з ожирінням показав, що у 65,5% з них виявляються патологічні зміни рівня ліпідів, як ранніх найбільш несприятливих ознак розвитку атеросклерозу. Виявлено підвищення рівня ЗХС, ТГ, зниження вмісту ХСЛПВЩ та збільшення КА. Характеристика вмісту ліпідів в залежності від наявності ІР показала, що в групі хворих з ожирінням при індексі НОМА більше 3,5 ум. од. вірогідно підвищені рівні ТГ та ХСЛПДНЩ, а при ЦД — ще і знижений вміст ХСЛПВЩ відповідно групи із показниками НОМА менше 3,5 ум.од. (у середньому на 22%, $P < 0,05$). При ЦД виявлено більш значні зміни показників ліпідного спектра у вигляді підвищення ТГ, ЗХС і його фракцій. Ці зміни були пов'язані із ознаками зниженої чутливості до інсуліну, особливо на тлі декомпенсації хвороби.

Ми встановили підвищення рівня лептину у хворих з ожирінням і при ЦД майже у 8 разів ($P < 0,001$) порівняно з показником контрольної групи. Однак, у хворих з ожирінням відмінностей в залежності від наявності ІР не виявлено. При ЦД серед хворих з ІР на тлі значної декомпенсації хвороби вміст лептину значно нижчий порівняно з групою хворих із задовільною компенсацією вуглеводного обміну та не відрізняється від контролю.

Таким чином, ожиріння та ЦД 1 типу у дітей та підлітків супроводжується патологічними змінами ліпідного спектру крові атерогенної спрямованості та рівня лептину, ступінь вираженості яких залежить від наявності інсулінорезистентності та характеру патології.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ПРОИЗВОДНЫХ ФОРМ ГЕМОГЛОБИНА В ЭРИТРОЦИТАХ У БОЛЬНЫХ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

ВИДМАЧЕНКО А. В.

ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии

им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины», Киев;

e-mail: vidmachenko@ifp.kiev.ua

Целью исследования было изучение *in vitro* влияния температуры на содержание в эритроцитах окси-, дезокси-, карбокси- и метгемоглобина у больных интерстициальной идиопатической пневмонией.

Эритроциты инкубировали при 21 и 37 °С в течение 1 и 2 часов. Спектральный анализ гемолизатов эритроцитов крови показал, что с ростом температуры уменьшается оптическая плотность при 542 и 576 нм (пики поглощения оксигемоглобина), что свидетельствует о снижении уровня оксигемоглобина в эритроцитах и об уменьшении сродства гемоглобина к кислороду.

Установлена температурная зависимость спектров поглощения гемоглобина при 21 и 37 °С и для других дериватов гемоглобина. С увеличением температуры и вре-

мени инкубации эритроцитов до двух часов существенно возрастает содержание мет-, дезокси- и карбоксигемоглобина.

Результаты проведенных исследований дают основание считать, что при идиопатической интерстициальной пневмонии происходит нарушение кислородсвязывающей функции гемоглобина и возрастание количества его форм, неспособных переносить кислород.

Работа выполнена за средства госбюджета.

СПЕКТРЫ ПРОИЗВОДНЫХ ФОРМ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

ВИДМАЧЕНКО А. В., КОРЖОВ В. И.

*ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии
им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины», Киев;
e-mail: vidmachenko@ifp.kiev.ua*

Одним из перспективных подходов к изучению идиопатических интерстициальных пневмоний (ИИП) является исследование спектров производных гемоглобина.

Проведено изучение содержания оксигемоглобина, дезоксигемоглобина, карбоксигемоглобина и метгемоглобина у больных ИИП (1-я группа) с последующим сравнением с группой практически здоровых лиц (2-я группа). Наряду с определением содержания производных гемоглобина проведен и комплекс общеклинических исследований.

При сравнении данных 1-й и 2-й групп было установлено, что у больных ИИП содержание гемоглобина, дезоксигемоглобина и карбоксигемоглобина снижено по сравнению с контрольной группой.

Такие изменения спектров различных форм гемоглобина у больных ИИП, вероятнее всего, связаны с существенными метаболическими нарушениями в дыхательных бронхиолах, альвеолах, альвеолярных мешочках, легочных ацинусах и с воспалением и фиброзом преимущественно в интерстиции легкого.

Работа выполнена за средства госбюджета.

ВПЛИВ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ МЕТАБОЛІТІВ НА СТАН ПОЗАКЛІТИННОГО МАТРИКСУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ГІПОКІНЕЗІЇ

¹ВОЛОДИНА Т. Т., ¹ДЗВОНКЕВИЧ Н. Д., ²РАДІОНОВА Н. В.,
¹ПОПОВА Н. М., ¹ПЕТРУНЬ Л. М.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України, Київ;

e-mail: volt@biochem.kiev.ua

Відомо, що зменшення фізичних навантажень на опорно-руховий апарат (космічні польоти), примусове зниження рухової активності (пролонгований постільний режим) та інше призводить до значних змін в кістковій тканині, які проявляються у наявності остеопорозів, резорбції кісток, гальмуванні утворення кісткової тканини з відповідним зниженням мінералізації скелету. Проведені нами дослідження виявили діаметрально-протилежну спрямованість анаболізму-катаболізму протеїнів відповідно до ступеня механічного навантаження. Внаслідок цього зміни стосувались не лише складових позаклітинного матриксу (колаген, глікозаміноглікани, глікопротеїни) опорно-рухового апарату, але й активності ензимів, що контролюють протеїновий, азотний і мінеральний обміни.

Мета досліджень — пошук та розробка лікувальних і профілактичних засобів, спрямованих на нормалізацію стану кісткової тканини за умов гіпокінезії, її протеїнового та мінерального обмінів, що має бути вагомим внеском в розвиток певних розділів клінічної та космічної медицини.

Проведено серію дослідів по визначенню впливу низькомолекулярних метаболітів на біохімічні показники протеїнового та мінерального обмінів, колагенові структури, глікозаміноглікани, а також неколагенові протеїни причетні до процесів мінералізації (остеонектин, остеопонтин, остеокальцин). Досліди проводили на трьох групах щурів лінії Вістар — контрольна (на стандартному раціоні віварію), і дві дослідні, що утримувались в умовах гіпокінезії з різним ступенем навантаження на опорно-руховий апарат (повне зняття напруги на задні кінцівки, тобто відсутність протидії земній гравітації, з відповідним збільшенням механічної напруги на передні кінцівки). В умовах гіпокінезії тварини утримувались місяць. При цьому одна із дослідних груп щурів одержувала домішку до стандартного раціону віварію, яка містила низькомолекулярні метаболіти (амінокислоти, солі органічних кислот, вуглецеві сполуки). Для досліджень використовували кісткову і хрящову тканини, сироватку крові і печінку.

Показано позитивний вплив низькомолекулярних метаболітів на стан кісткової тканини, який проявляється у нормалізації показників кислотно-лужної рівноваги, протеїнового і мінерального обмінів, активності лужної фосфатази, стимуляції диференціювання фібробластів в бік остеобластів, синтезу колагену, глікозаміногліканів і неколагенових глікопротеїнів.

**СТАТЕВА ДЕТЕРМІНАЦІЯ СИНТЕЗУ ВАЗОАКТИВНИХ
РЕЧОВИН ЯК ПРЕДИКТОР ГЕНДЕРНИХ ВІДМІННОСТЕЙ
ГАСТРО- І НЕФРОТОКСИЧНОСТІ НЕСТЕРОЇДНИХ
ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ (НПЗЗ)**

ВОЛОЩУК Н. І., ТАРАН І. В., ПАШИНСЬКА О. С.

*Вінницький національний медичний університет
ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail voloshchukn@rambler.ru*

Метою дослідження було виявити наявність гендерних відмінностей в активності ензимів, які забезпечують синтез деяких вазоактивних молекул — простагландин-Н-синтази (PGH-синтази), NO-синтази, цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ) в слизовій оболонці шлунку (СОШ) і нирках щурів, а також їх зміни за умов введення диклофенаку натрію.

Досліди проведені на 102 самцях та самках статевозрілих щурів, частині яких вводили диклофенак натрію (10 мг/кг інтрагастрально 1 раз на добу протягом 5-ти днів). В гомогенатах нирок та СОШ визначали активність PGH-синтази за накопиченням окисленої форми адреналіну, сумарну активність NO-синтаз за кількістю утвореного нітрит-аніону (NO_2^-) та активність ЦГЛ за кількістю утвореного H_2S після інкубації у відповідних середовищах.

Встановлено, що в шлунку та нирках самок продукція деяких вазоактивних молекул переважає таку у самців, доказом чого є достовірно вища активність PGH-синтази, NO-синтази та ЦГЛ в СОШ та нирках інтактних самок, порівняно з самцями. В СОШ активність досліджуваних ензимів у тварин жіночої статі була на 37,8, 31,3 та 36,5% вище, ніж у самців ($P < 0,05$). Аналогічна тенденція була зареєстрована в нирках: активність PGH-синтази, NO-синтази та ЦГЛ у самок на 28,7, 35,6 та 30,4% перевищувала відповідні показники тварин протилежної статі ($P < 0,05$). Диклофенак натрію зменшував активності PGH-синтази, NO-синтази та ЦГЛ у тварин обох статей, однак виразніше падіння активності цих ензимів було зареєстровано саме у самців. У шлунку самців диклофенак-індуковане падіння активності досліджуваних ензимів становило 26,3, 29,2 та 30,4% проти 20,8, 20,5 та 28,3% у самок. В нирках самців за аналогічних умов дослідження активність цих ензимів зменшувалась, відповідно на 29,6, 27,2 та 28,3% проти 19,9, 22,0 та 21,3% у самок. Встановлені нами статеві відмінності продукції вазоактивних молекул на тлі введення НПЗЗ не лише зберігались, але і дещо поглиблювались.

Перевищення продукції вазорелаксуючих молекул у самок щурів та виразніше пригнічення їх синтезу за умов дії диклофенаку натрію у самців, можуть бути одним з пояснень більшої схильності осіб чоловічої статі до гастро- і нефротоксичного ефектів НПЗЗ.

ЗМІНИ АКТИВНОСТЕЙ АТР-ГІДРОЛАЗНИХ СИСТЕМ – ПОКАЗНИКИ РОЗВИТКУ ЕРЕКТИЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ

ВОРОБЕЦЬ Д. З.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua*

Еректильна дисфункція різної природи зустрічається в тій чи іншій формі у 40–52% чоловіків після 40 років. Пошук чутливих показників, які б відображали одночасно фізіологічний статус організму і метаболічні зміни всередині клітини є актуальним питанням. Одними з таких показників можуть бути АТР-ази. Лімфоцити периферичної крові здатні швидко реагувати на будь-які зміни гомеостазу в організмі та є зручним об'єктом для проведення досліджень, пов'язаних з різними патологіями, зокрема порушеннями еректильної функції.

Метою роботи було вивчення активностей Na^+, K^+ -АТР-ази плазматичної мембрани та H^+ -АТР-ази мітохондрій лімфоцитів крові при еректильній дисфункції чоловіків різного віку. Дослідження проводились на лімфоцитах периферичної крові клінічно здорових чоловіків віком 18–29 років (група 1) та віком 52–66 років (група 1.1), чоловіків з психогенною моносиндромною еректильною дисфункцією віком 18–29 років (група 2) та чоловіків зі змішаною формою еректильної дисфункції віком 52–66 роки (група 3). Лімфоцити крові виділяли з гепаринізованої крові. Для розкриття латентних АТР-азних активностей до суспензії лімфоцитів додавали 0,2% розчин сапоніну. Для ідентифікації АТР-азних активностей використовували специфічні блокатори – оубаїн та азид натрію.

Виявлено, що в контрольній групі 1 чоловіків в лімфоцитах периферичної крові активність Na^+, K^+ -АТР-ази складає $3,8 \pm 0,4$, а в контрольній групі 1.1 вона складає $3,5 \pm 0,3$ мкмоль P_i /год·мг протеїну. У лімфоцитах чоловіків групи 2 ця величина дещо зменшується і становить $3,7 \pm 0,3$, а у лімфоцитах чоловіків групи 3 активність ензиму знижується до $2,9 \pm 0,3$ мкмоль P_i /год·мг протеїну. Активність H^+ -АТР-ази мітохондрій лімфоцитів у чоловіків групи 1 при цьому складала $3,7 \pm 0,3$, а групи 1.1 – $3,2 \pm 0,3$ мкмоль P_i /год·мг протеїну. У лімфоцитах чоловіків групи 2 ця величина дещо знижується, до $3,5 \pm 0,3$ мкмоль P_i /год·мг протеїну, а у лімфоцитах чоловіків групи 3 знижується ще більше, до $2,4 \pm 0,2$ мкмоль P_i /год·мг протеїну.

Таким чином, при еректильній дисфункції (змішаної природи) чоловіків інгібуються активності Na^+, K^+ -АТР-ази та H^+ -АТР-ази лімфоцитів периферичної крові, що призводить до накопичення Na^+ в цитоплазмі, енергодефіциту та порушення клітинних функцій.

МІНЕРАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ ВОЛОСА ЛЮДИНИ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

ГАВРИЛЯК В. В., МАКАР І. А.

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

Відомо, що дисбаланс макро- і мікроелементів в організмі може бути як причиною, так і наслідком певних патологічних станів і захворювань волосся людини.

Метою даної роботи було порівняти елементний склад волосся жінок віком 35–40 років у нормі та при патології. Для аналізу були відібрані зразки волосся, які за даними трихограм можна розділити як норма (співвідношення анаген/телоген становило 8 : 2) та дифузне телогенове випадання (співвідношення анаген/телоген становило 5,5 : 4,5). Дослідження проводили за допомогою електронного скануючого мікроскопа РЕММА-102, що дозволяє оцінити локалізацію та ступінь насичення макро- і мікроелементами різних структурних компонентів (кутикула, кортекс, серцевина) волоса.

Кількісно у волосі визначено такі елементи, як О, Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Са. З'ясувалось, що внутрішня структура волоса насичена цими елементами неоднорідно. Зокрема, такі елементи, як Na, Mg, Al, K, Cl, розподілені рівномірно вздовж поперечного перерізу волоса як у нормі, так і при патології.

У наших дослідженнях особливий інтерес становила сірка, як елемент, що входить до складу кератин-асоційованих протеїнів, що мають виняткове значення для формування фізико-механічних властивостей волоса. Встановлено, що вміст сірки у волосі коливався в межах 5,01–6,83% і в середньому становив у нормі 6,48%, тоді як при дифузному телогеновому випаданні він був нижчий – 5,82% ($P \leq 0,05$). Що ж до розподілу сірки, то найменша її кількість фіксувалася у кутикулі, тоді як у кортексі її концентрація була значно вищою, хоча корковий шар у своїй масі також неоднорідний за концентрацією цього елемента.

За вмістом кальцію і кремнію, які також мають істотне значення у забезпеченні хімічної стійкості волоса, істотних різниць як у нормі, так і при патології не виявлено. Відмічено, що ці елементи переважно локалізуються у кутикулі.

Одержані дані можуть бути використані як інформативний критерій для оцінювання структурної організації волоса за різних патологічних станів з метою підвищення ефективності їх лікування.

**ВЛИЯНИЕ ВИСМУТОВЫХ КОМПЛЕКСОВ
ПОРФИРИНОВ НА СИНТЕЗ ВТОРИЧНЫХ
МЕТАБОЛИТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ ПОД КОНТРОЛЕМ
RHL-СИСТЕМЫ QUORUM SENSING,
У *Pseudomonas aeruginosa***

ГАЛКИН Н. Б., ИВАНИЦА В. А., МАЛЯРЧИК И. О.,
ПАХОМОВА Е. Ю.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;
e-mail: volandaron@ukr.net

Формирование биопленки многими условно-патогенными бактериями, в частности *Pseudomonas aeruginosa*, является одним из ключевых процессов, необходимых для реализации патогенных свойств этих микроорганизмов. Так, вентиляторная пневмония — основная причина смерти больных муковисцидозом — вызывается только теми штаммами *P. aeruginosa*, которые способны образовывать биопленку. Образование биопленки у бактерий находится под контролем глобальной системы межклеточной коммуникации — *quorum sensing*. Ее компоненты рассматриваются в качестве потенциальных мишеней антимикробных средств нового поколения. Известные на сегодняшний день экспериментальные препараты, являются аналогами сигнальных молекул этой системы. Их антимикробная активность невелика, и существует высокая вероятность их инактивации энзимами, участвующими в метаболизме природных аутоиндукторов. Это определяет перспективность поиска новых веществ, способных влиять на функционирование системы *quorum sensing*.

Целью нашей работы — изучить влияние висмутовых комплексов синтетических и природных порфиринов на интенсивность синтеза вторичных метаболитов у *P. aeruginosa*, находящихся под контролем *rhl*-системы *quorum sensing*.

В работе были использованы висмутовые комплексы мезо-тетра(4-N-метил)пиридилпорфирина (Bi^{3+} -ТПП), мезо-тетра(6-N-метил)хинолинилпорфирина (Bi^{3+} -ТХП) и протопорфирина IX (Bi^{3+} -ПП IX). Об активности системы *quorum sensing* судили по интенсивности синтеза двух маркеров: пиоцианина и рамнолипида. Исследование проведено на трех штаммах *P. aeruginosa*, обладающих разным уровнем синтеза пиоцианина и рамнолипида: РАО-1 (6 мкг/мл и 0,355 у.е., соответственно), АТСС 27853 (4,1 мкг/мл и 0,230 у.е.) и АТСС 10145 (2,4 мкг/мл и 0,150 у.е.).

Результаты показали, что все исследованные металлокомплексы порфиринов дозозависимо подавляют способность всех штаммов синтезировать данные маркеры. Наибольшей активностью обладает Bi^{3+} -ТПП, который в конечной концентрации 80 мкМ вдвое снижает образование пиоцианина и на 60–75% уменьшает синтез рамнолипида. Как было показано нами ранее, формирование биопленки в этих условиях подавляется практически полностью.

METABOLIC PROFILE IN EXPERIMENTAL MILD HYPOTHYROSIS: POSSIBLE RISK FACTOR FOR ATHEROSCLEROSIS

GZHEGOTSKY M. R., CHUPASHKO O. I.

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine;
e-mail: nil.roma@rambler.ru*

Subclinical hypothyrosis (SCH) is defined by the finding of elevated serum thyroid stimulating hormone (TSH) concentrations associated with normal free thyroid hormone levels. A reversible impairment of systolic and diastolic myocardial function has also been reported in SCH, and the condition has been claimed to be a risk factor for coronary heart disease and peripheral arterial disease. However, whether this risk is conveyed by an altered lipid profile is uncertain because the relationship between SCH and serum lipid levels is still controversial.

The aim of the present study was to evaluate the lipoprotein profile with other metabolic changes of blood, myocardium, and liver tissue under condition of experimental subclinical hypothyrosis.

The rat blood, myocardium, and liver tissue, were investigated with this purpose. The model of mild thyroid failure was induced by the administration of mercazolilum in doses of 3 mg/kg during 3 weeks. Total cholesterol (TCh), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), low-density lipoprotein (LDL), the content of some products of free radical metabolism, activity of antioxidant enzymes, as well as nitrite-ion level under conditions of hypothyrosis were determined.

A relationship between mild hypothyrosis and dislipidemia was well established. An increase in serum levels of low-density lipoprotein (LDL), and reduction in high-density lipoprotein cholesterol (HDL), and as a result, increase in atherogenic index (0.530 ± 0.035) have been shown.

With respect to parameters of nitric oxide system, the decreased level of nitrite-ion in rat blood, likewise the mobilization of mononitric oxide system in myocardial (25.7%) and liver tissue has been also demonstrated. It should be emphasized that the observed changes can predict the tendency to endothelial dysfunction in SCH.

According to our researches, the thyroid function is significantly related to the changes of free-radical component of metabolism. We found the activation of lipoperoxidation (LPO) processes in blood, and, in fact in all media under condition of hypothyrosis. Moreover, the antioxidant enzymes activity was depressed. Overall, these data suggest the impairment of the antiradical protective link.

In conclusion, the altered lipoprotein values, possible role of mononitric oxide system, associated with affected free-radical metabolism under reduced thyroid hormone action may enhance cardiovascular risk.

**ОСОБЛИВОСТІ ВСМОКТУВАННЯ
КОРОТКОЛАНЦЮЖКОВИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ
ТА ЇХ ЕКЗОГЕННИХ ПОПЕРЕДНИКІВ ВЗДОВЖ
ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ
В ОРГАНІЗМІ БІЛИХ МИШЕЙ**

ГОЛОВЕНКО М. Я., ЛИХОТА О. Б.

*Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса;
e-mail: lihota_05_81@mail.ru*

Коротколанцюжкові жирні кислоти (КЛЖК) є монокарбоновими похідними з довжиною ланцюга до 8 атомів вуглицю. Їхнє походження бере початок з некрохмальних полісахаридів, які піддаються ферментуванню анаеробними бактеріями в товстій кишці з утворенням таких найважливіших сполук, як оцтова, пропіонова та масляна кислоти. Сьогодні накопичено багато даних, що свідчать про регулюючу роль КЛЖК у значній кількості фізіологічних процесів, що мають місце у кишечнику людини та тварин. Джерелом КЛЖК в організмі можуть також бути деякі ксенобіотики: етанол → ацетальдегід → оцтова кислота; бутанол → масляний альдегід → масляна кислота.

Виходячи з цього, метою роботи було вивчення процесів транспортування попередників оцтової і масляної кислот та самих КЛЖК в шлунково-кишковому тракті (ШКТ) білих мишей. Для цього були використані відповідні сполуки, мічені радіоактивним ізотопом (^{14}C). Сполуки вводили тваринам внутрішньовенно (5 ммоль/кг) та інтрагастрально (5, 10 і 20 ммоль/кг) і їх наявність визначали у крові, печінці, окремих ділянках ЖКТ (шлунок, тонка, товста, пряма кишка).

Встановлено, що всмоктування сполук у ШКТ включає основні шляхи перенесення речовин: міжклітинний (парацелюлярний) та крізьклітинний (трансцелюлярний). Одним із головних чинників цього може бути будова та фізико-хімічні характеристики сполуки. Досліджуючи транзит вздовж ШКТ, відмічено дозозалежний вміст радіоактивного матеріалу в окремих ділянках ШКТ. Значна наявність ^{14}C етанолу та бутанолу при внутрішньовенному введенні була зареєстрована у товстому кишечнику та прямій кишці, що дозволяє припустити високу швидкість надходження метаболітів до цих відділів ШКТ. Подальший розподіл в окремих відділах ШКТ спостерігається, як при інтрагастральному введенні, де основними місцями всмоктування сполук є шлунок та тонка кишка. Розподіл метаболітів ^{14}C етанолу та бутанолу в окремих відділах кишечника може призвести до перевищення концентрацій цих речовин в циркулюючій крові стосовно вмісту в ШКТ. Порівнюючи концентрації цих сполук у плазмі крові і шлунку у певні проміжки часу досліду підтверджено наявність процесу реабсорбції (кров → ШКТ). Наявність сполук в різних відділах ШКТ при внутрішньовенному введенні може бути опосередкована також і кишково-печінковою циркуляцією.

Таким чином, у разі обговорення даних всмоктування ксенобіотиків в ШКТ необхідно враховувати їхні механізми (транзит і реабсорбцію).

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ БИОМЕМБРАН ПРИ ПСОРИАЗЕ

ГОНЧАРЕНКО М. С.

*Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: valeolog@univer.kharkov.ua*

Цель настоящего исследования состояла в изучении молекулярных механизмов повреждения биомембран при псориазе.

Изучение молекулярных механизмов повреждения клеточных мембран при гиперэпидермопозе проводилось путем оценки состояния их окислительной и антиокислительной активности (АОА). Для этого исследовали спонтанную и индуцированную железом биохемилюминесценцию, активность ПОЛ (пероксидного окисления липидов) по уровню МДА (малонового диальдегида), активность фосфолипазы A_2 и содержание жирных кислот, содержание витаминов А и Е, активность пероксидазы.

Проведенные исследования позволили заключить, что усиление мембранных нарушений при псориазе осуществляется за счет активации свободнорадикальных, пероксидных и фосфолипазных процессов. При данном заболевании активируется спонтанная и индуцированная железом хемилюминесценция сыворотки крови. Патологический процес характеризуется значительным увеличением уровня свободных жирных кислот и фосфолипазной активности сыворотки крови. В этот период наблюдается усиление процессов пероксидного окисления липидов, о чем свидетельствует увеличение уровня МДА в сыворотке, эритроцитах и биоптатах кожи. Этому способствует также угнетение антиокислительных клеточных систем, включающих уровень витаминов А и Е, пероксидазной активности, уровень перекисного гемолиза и другие факторы.

Установлено, что при гиперэпидермопозе наблюдается активация свободнорадикальных, пероксидных и фосфолипазных процессов; снижение содержания витаминов А и Е, активности пероксидазы и пероксидной резистентности эритроцитов, что приводит к усилению деградации липидов мембран клеток крови.

На основании полученных данных о молекулярных механизмах повреждения клеточных мембран при хроническом гиперэпидермопозе разработаны и внедрены новые методы диагностики предрецидивных состояний и мембрано корригирующей терапии заболевания, включая кальцийантагонистические, цинксодержащие и антиоксидантные средства.

ВПЛИВ ДЕФІЦИТУ ЕСТРОГЕНІВ НА ОКСИДАНТНИЙ СТАТУС МІТОХОНДРІЙ СЕРЦЯ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

*ГОРБЕНКО Н. І., ІВАНОВА О. В., БОРІКОВ О. Ю., ТАРАН К. В.,
СТЕПАНОВА А. В., ЗВЯГІНА Т. С., ОЛЕЙНІКОВА С. П.*

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

Результати експериментальних досліджень та епідеміологічні спостереження станів, пов'язаних із втратою ендогенних естрогенів під час менопаузи, свідчать про те, що дефіцит естрогенів асоціюється з негативним впливом на серцево-судинну систему та прискореним атеросклерозом. Відповідно до «мітохондріальної гіпотези старіння» в основі вікових та кардіоваскулярних порушень лежить зниження продукції енергії мітохондріями, посилення оксидативного стресу і прискорений апоптоз клітин. Відомо, що інсулінорезистентність є однією з основних патогенетичних ланок метаболічного синдрому та провідним чинником ризику серцево-судинної патології.

Метою роботи було визначення оксидантного статусу мітохондрій серця у самиць щурів із інсулінорезистентністю, індукованою дексаметазоном (Д), за умов еу- та гіпоестрогенії.

Дослідження проведено на статевозрілих щурах лінії Вістар. Гіпоестрогенію відтворювали шляхом двосторонньої оваріектомії під легким ефірним наркозом. Експериментальні тварини були розподілені на 3 групи: інтактні щури (І, $n = 6$); оваріектомовані (ОВ+Д, $n = 6$) та псевдооперовані (П+Д, $n = 6$) щури, яким вводили Д і.р. у дозі 1 мг/кг маси тіла протягом 5 діб. Стан глюкозного гомеостазу оцінювали наприкінці експерименту за показниками базальної глікемії та під час внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (3 г/кг маси тіла). Площину під глікемічними кривими визначали за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab». Коефіцієнт чутливості до інсуліну оцінювали під час короткого інсулінового тесту (0,5 Од/кг маси тіла). Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів визначали за рівнем гідроперексидів, а стан антиоксидантної системи оцінювали за вмістом відновленого глутатіону та активністю глутатіонпероксидази в мітохондріях серця.

У результаті проведеного дослідження було встановлено, що введення дексаметазону протягом 5 діб експериментальним щурам, незалежно від рівня естрогенів, сприяє розвитку інсулінорезистентності та інтолерантності до вуглеводів, про що свідчило зменшення чутливості до інсуліну майже вдвічі ($P < 0,05$) та підвищення площини під глікемічними кривими під час проведення тесту толерантності до вуглеводів ($P < 0,05$) відносно показників інтактного контролю. Виявлено, що вміст гідроперексидів в мітохондріях серця псевдооперованих щурів із інсулінорезистентністю не відрізнявся від показників інтактного контролю (П+Д: $6,77 \pm 0,49$ vs І: $6,90 \pm 0,58$ нмоль/мг протеїну, $P > 0,05$). В той же час, у оваріектомованих тварин із інсулінорезистентністю спостерігали інтенсифікацію пероксидного окислення ліпідів, про що свідчило підвищення вмісту гідроперексидів в

мітохондріях серця (ОВ+Д: $9,06 \pm 0,75$ нмоль/мг протеїну, $P < 0,05$). Крім того, у щурів із інсулінорезистентністю як за наявності, так і за відсутності гіпоестрогенії, відмічали пригнічення глутатіон-залежної ланки антиоксидантного захисту, про що свідчило зниження вмісту відновленого глутатіону (П+Д: $8,74 \pm 1,49$; ОВ+Д: $7,78 \pm 1,01$ vs I: $12,04 \pm 1,34$ нмоль/мг протеїну, $P < 0,05$) та активності глутатіонпероксидази (П+Д: $10,60 \pm 0,75$; ОВ+Д: $11,25 \pm 1,28$ vs I: $14,74 \pm 1,66$ нмоль/хв/мг протеїну, $P < 0,05$) в мітохондріях серця.

Встановлено, що дефіцит естрогенів спричиняє розвиток оксидативного стресу в мітохондріях серця щурів із інсулінорезистентністю за рахунок інтенсифікації процесів пероксидного окислення ліпідів та зниження антиоксидантної системи захисту. Отримані результати свідчать про важливу роль ендогенних естрогенів в регулюванні про/антиоксидантного балансу в мітохондріях, що може бути одним із механізмів кардіопротекторної дії даних гормонів.

ЖЕЛАТИНОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ТА ДЕГРАДАЦІЯ ФІБРОНЕКТИНУ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ ПРИ ДОКСОРУБІЦИН-ІНДУКОВАНІЙ КАРДІОМІОПАТІЇ

*ГОРДІЄНКО Ю. А., КУЛІНІЧ А. О., ЧЕРНОВ Є. О.,
МАМЧУР В. Й., ШЕВЦОВА А. І.*

*Дніпропетровська державна медична академія, Україна;
e-mail: gordienko.ju@gmail.com*

В нормі в екстрацелюлярному матриксі (ЕЦМ) міокарду процеси синтезу та фізіологічної деградації протеїнів врівноважені. Центральну позицію у збалансуванні цих процесів займають желатинази А та В (або матриксні металопротеїнази ММП2 та ММП9). Інтенсифікація протеолізу у ЕЦМ серцевого м'яза призводить до ушкодження та перебудови його структурних компонентів, зокрема, фібронектину (ФН).

Метою наших досліджень було провести порівняльний аналіз активності желатиназ А та В та ступеня деградації ФН у плазмі крові щурів при дилатаційній кардіоміопатії (ДКМП), індукованої доксорубіцином (ДР), за умов блокування циклооксигеназ (ЦОГ) селективними та неселективними інгібіторами.

Експеримент проводили на щурах, яких було поділено на 9 груп по 6 особин в кожній. До першої групи увійшли інтактні тварини, у всіх інших тварин було індуковано ДКМП за допомогою ДР: до другої увійшли щури з ДКМП, 3 група отримувала біофлавоноїд кверцетин (КВ), 4 – кеторолак (КТ, інгібітор ЦОГ1), 5 – лорноксикам (ЛС, неспецифічний інгібітор), 6 – целекоксиб (ЦКС, інгібітор ЦОГ2), 7, 8, 9 групи на тлі застосування вищезазначених препаратів отримували КВ. У всіх групах щурів методом желатин-зимографії досліджували активність ММП2 та ММП9. Концентрацію ФН визначали методом імунодоту, для оцінки спектра деградації фібронектину застосовували вестерн-блот аналіз із використанням кролячих антитіл до ФН.

У всіх групах тварин при ДКМП спостерігалось підвищення активності желатиназ. Під дією КТ активність проММП9 зростала (1,1–1,4 раза), тоді як активність проММП2 та ММП9 знижувалась. ЦКС виказував протилежну дію: відповідно активність латентної ММП9 знижувалась, а ММП2 – зростала ($110,3 \pm 2,13\%$ та $130,8 \pm 0,89\%$) у порівнянні з групою тварин із ДКМП. Комбінація усіх препаратів із КВ супроводжувалась значним зниженням активності зрілої ММП9 (0,6–0,8 раза), та збільшенням ММП2 відносно групи тварин з ДКМП, суттєво не впливаючи на латентні форми.

При ДКМП вірогідно зростала концентрація ФН у порівнянні з нормою ($0,565 \pm 0,014$ мг/мл та $0,465$ мг/мл відповідно), а також ступінь його деградації. У разі введення шурам з ДКМП досліджуваних препаратів концентрація ФН практично не змінювалась, але значно змінювався спектр генерованих фрагментів, причому збільшення фрагментованості ФН спостерігалось в плазмі крові тварин, яким вводили ЦКС та ЛК, про що свідчила поява нових фрагментів з М 45, 50 та 78 кДа. Введення досліджуваних препаратів разом із КВ призводило до зменшення ступеня фрагментованості ФН.

Таким чином, синтез ММП9 активується, а продукція ММП2, навпаки, пригнічується під дією інгібіторів ЦОГ1. Інгібітори ЦОГ2 проявляють протилежний ефект. При застосуванні КВ на фоні інгібіторів ЦОГ зростає активність ММП2. Підвищення ступеня деградації ФН при ДКМП на тлі застосування інгібіторів ЦОГ відбиває активність процесів протеолізу, визначені зміни спектра ФН свідчать про різноспрямовану дію досліджуваних препаратів на активність желатиназ.

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ВМІСТ СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ В СІМ'ЯНИКАХ ТА ПЛАЗМІ КРОВІ ЗА СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ У ЩУРІВ

*ГОРІДЬКО Т. М., КОСЯКОВА Г. В., БЕРДИШЕВ А. Г.,
ПАНІЧКІНА О. І., ГОЛІЧЕНКО В. В., ГУЛА Н. М.*

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

Відомо, що хронічна гіперглікемія зумовлює розвиток оксидативного стресу. При цьому різко погіршуються антиоксидантні властивості крові, знижується активність ензимів антиоксидантного захисту, підвищується вміст пероксидів ліпідів у тканинах. N-ацилетаноламіни – мінорні ліпідні компоненти мембран, біологічна дія яких спрямована на посилення антиоксидантних та репаративних процесів в організмі.

Тому, метою наших досліджень було вивчення впливу N-стеароїлетаноламіну (NSE) на генерацію ТБК-активних продуктів, активність основних ензимів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази (ГП)) та вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в сім'яниках та плазмі

крові щурів на початкових етапах розвитку цукрового діабету I типу, індукованого введенням стрептозотоцину (50 мг/кг). Результати наших досліджень показали, що через 90 днів після індукції цукрового діабету в сім'яниках щурів відбувається накопичення ТБК-активних продуктів, зниження активності СОД та каталази. Зниження активності СОД і ГП та збільшення активності каталази спостерігається також і в плазмі крові. При цьому істотно зростає вміст нітрит- (NO_2^-) та нітрат- (NO_3^-) аніонів в плазмі та NO_2^- в сім'яниках щурів. У разі введення тваринам перорально водної суспензії NSE у дозі 50 мг/кг маси тіла протягом 10 днів, починаючи з 80-го дня розвитку діабету, відбувається підвищення активності СОД і каталази в сім'яниках та нормалізація активності СОД, ГП і каталази в плазмі крові. Також NSE перешкоджає накопиченню ТБК-активних продуктів у сім'яниках та сприяє нормалізації вмісту як NO_2^- , так і NO_3^- в сім'яниках і плазмі крові щурів.

Отже, N-стеароїлетаноламін здатен модулювати стан антиоксидантної системи в організмі щурів на початкових етапах розвитку цукрового діабету I типу. Це відкриває перспективи створення на його основі лікарського засобу для корекції порушень антиоксидантного захисту організму за даної патології.

ПРЕКУРСОР ОКСИДУ АЗОТУ – ГЛУТАРГІН – ЯК ЕФЕКТИВНИЙ КЕРАТОПРОТЕКТОР

ГОРЛАЧОВА П. М., НЕПОРАДА К. С.

*Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія», Полтава;
e-mail: neporada_69@mail.ru*

Метою дослідження було обґрунтування ефективності використання глутаргіну для експериментальної корекції ушкоджень рогівки ока.

Експерименти виконані на 25 кролях (50 очей) породи «шиншила» (вагою 2,0–2,5 кг). Моделювання травми рогівки ока здійснювали під місцевою анестезією шляхом нанесення поранення сколеним лезом у оптичній зоні. Експериментальну корекцію травматичного ушкодження рогівки проводили 4% розчином глутаргіну та 1% розчином тіотриазоліну в вигляді інстиляцій (по 2 краплі 6 разів на день) та субкон'юнктивальних ін'єкцій (по 0,2 мл 1 раз на добу) в обидва ока тварин, упродовж 5 діб. Тварин було розподілено на 4 групи: перша група – інтактна (10 очей); друга група – травма рогівки, евтаназія тварин на 7 добу (10 очей); третя група – експериментальна корекція ушкоджень рогівки (30 очей) 4% розчином глутаргіну; четверта група – корекція ушкоджень рогівки (20 очей) 1% тіотриазоліном. В гомогенаті рогівки ока досліджували вміст вільної фукози за методом П. Н. Шараєва та співавт. (1997), вміст нітратів/нітритів реактивом Гріса.

Нами встановлено, що за умов ушкодження рогівки на 7 добу вміст вільної фукози у гомогенаті рогівки ока у 4,3 раза вірогідно підвищився порівняно з контрольними тваринами. За експериментальної корекції глутаргіном, вміст вільної фукози у рогівці ока достовірно зменшився в 2,6 раза порівняно з тваринами, яким моделювали ушкодження без корекції. Застосування препарату тіотриазоліну знижувало у 2,2 раза вміст вільної фукози порівняно з групою тварин з ушкодженням

рогівки без корекції. При дослідженні нітратів/нітритів, як кінцевих продуктів метаболізму оксиду азоту, в гомогенаті рогівки встановлено зменшення їх вмісту в 2,7 раза у тварин з травмою рогівки порівняно з інтактними тваринами. За умов корекції глутаргіном впродовж 5 діб після травми рогівки, нами встановлено збільшення нітратів/нітритів в 2,6 раза порівняно з групою тварин з ушкодженням рогівки без корекції, також збільшення в 2,5 раза порівняно з експериментальною корекцією традиційним препаратом тіотриазоліном, який широко використовують в офтальмотравматології.

Отже, глутаргін є ефективним кератопротектором за умов травми ока, про що свідчить зменшення деструкції фукопротеїдів та збільшення вмісту оксиду азоту у рогівці.

ПОЄДНАННЯ ТВЕРДО-ФАЗОВОЇ ЕКСТРАКЦІЇ ТА ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ПРИ ВИЗНАЧЕННІ ФЕНОЛУ, ЩО ВИВІЛЬНЯЄТЬСЯ З ПОЛІМЕРІВ МЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ

ГРИГОР'ЄВА М. В.

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

Відомо, що полімери та матеріали на їхній основі з часом старіють. Це призводить до зміни їхніх властивостей. Для запобігання втрати міцності та еластичності полімеру застосовують антиоксиданти — ефективні синтетичні інгібітори старіння: ароматичні аміни (дифеніламін, *n*-амінофенол), феноли, продукти конденсації альдегідів та кетонів з ароматичними амінами. Усі ці сполуки гепатотоксичні, тому при розробці полімерних композицій, а у подальшому і виробів з них, важливо контролювати їх щодо вивільнення з них токсичних домішок, зокрема фенолів.

Для визначення допустимої кількості міграції (ДКМ) фенолу з полімерів медичного призначення, вміст якого не повинен перевищувати 0,05 мг/мл, був розроблений метод обернено-фазової вискоєфективної рідинної хроматографії (ОФ ВЕРХ) та проведені модельні досліді *in vitro*. Проведення аналізу екстрактів на наявність в них фенолів передбачає такі етапи: екстракція фенолів з полімерних зразків, концентрування екстрактів методом твердо-фазової екстракції (ТФЕ), аналіз проб методом ВЕРХ. Твердо-фазову екстракцію проводили з застосуванням полімерного адсорбенту Amberlite. Цей адсорбент завдяки своїм функціональним групам, які утворюють пори, має високу адсорбційну ємність, що дозволяє вилучати феноли (у низьких концентраціях) з розчинів. Екстракцію фенолів з полімерних зразків проводили у водно-метанольному розчині впродовж 30 хв. Далі екстракт фільтрували та наносили на колонку з Amberlite XAD 7 HP (10x100 мм) з подальшою десорбцією ацетоном, упарюванням та хроматографічним аналізом проби. Хроматографічні дослідження проводили на системі LKB (Швеція), колонка Chromolith RP-18, мобільна фаза: метанол і вода (35:65, v/v); швидкість потоку елюенту — 1,0 мл/хв, довжина хвилі — 280 нм, температура вимірювання — кімнатна. Концентрацію фенолу розраховували, використовуючи метод зовнішнього

стандарту. За кінцевий результат вимірювань приймали середнє арифметичне значення результатів двох паралельних визначень, допустиме відносне розходження між котрими не перевищувало $\pm 2s$. Встановлено, що межа кількісного визначення фенолу в досліджуваних екстрактах без попередньої ТФЕ становить 0,2 мг/мл, межа стандартного відхилення – 6% ($P \leq 0,05$), тоді як вилучення його з екстрактів за допомогою полімерного носія Amberlite дозволяє вимірювати феноли у мінімально допустимій концентрації $0,05 \pm 0,002$ мг/мл ($P \leq 0,05$).

Показано, що концентрування фенолу за допомогою ТФЕ значно підвищує чутливість методу ОФ ВЕРХ, що дозволяє у подальшому застосовувати запропонований метод для контролю ДКМ фенолу, що вивільняється з полімерів, синтезованих для медичного призначення.

ПОРІВНЯННЯ ВПЛИВУ ВІТАМІНІВ С І Е НА NO-СИНТАЗНУ СИСТЕМУ ТА ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ СТРЕСУ, ЗУМОВЛЕНОГО ДІЄЮ АДРЕНАЛІНУ

ГРЮК І. Б., ШАМРО Н. Р.

*Рівненський державний гуманітарний університет, Україна;
e-mail: nat-shamro@yandex.ru*

Вітаміни Е та С відіграють важливу роль у регуляції механізмів цитопротекції, антиоксидантному захисті та забезпеченні структурно-функціональної цілісності компонентів слизової оболонки товстої кишки (СОТК). Роль антиоксидантних вітамінів Е та С за умов стресу в регуляції процесів ліпопероксидації та активності NO-синтаз (NOS) у СОТК вивчена недостатньо.

Метою досліджень було визначення впливу вітамінів Е та С на активність NO-синтаз, вміст нітроген оксиду (NO), продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК) та активність ензимів системи антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза) у СОТК за умов стресу.

Дослідження проведені на 36 білих щурах згідно міжнародних умов проведення експериментів з лабораторними тваринами. Стрес викликали інтраперитонеальним введенням адреналіну (2 мг/кг) за методом Белостоцького. Матеріал для досліджень брали під уретановим наркозом (1,1 мг/кг). Визначали активність NOS; вміст NO_x^- , концентрацію L-аргініну в плазмі крові. Для оцінки процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантної системи у СОТК визначали вміст продуктів ТБК, активність СОД та каталази. Контролем розвитку стресової реакції за дії адреналіну була наявність деструктивних ушкоджень у слизовій оболонці шлунка. Досліджували самостійну дію вітамінів С та Е, які вводили у дозі 200 мг/кг та 150 мг/кг, відповідно, за 15 хв до дії адреналіну.

У СОТК за дії адреналіну спостерігалось зростання активності загальної NOS на 80% ($P < 0,05$), активність iNOS підвищувалась у 4,4 раза ($P < 0,05$), активність cNOS не змінювалась, вміст NO підвищився на 79% ($P < 0,05$). Концентрація L-аргініну знижувалась на 22,8% ($P < 0,05$), водночас зростав вміст продуктів ТБК (40%) та підвищувалась активність СОД (25%).

Введення вітаміну С зменшувало активність загальної NOS на 24%, активність cNOS зростала на 27%, активність iNOS знижувалась на 50%, вміст NO зменшився на 40%. Знижувалась активність процесів ліпопероксидації (на 25%), СОД і каталази.

За умов одноразового введення вітаміну Е на фоні адреналіну відбувалось зменшення вмісту NO_x^- на 38% ($P < 0,05$), зниження загальної активності NOS на 34%, активності iNOS — на 36%. Активність cNOS за дії вітаміну Е зменшилась на 28% порівняно з впливом адреналіну. Концентрація L-аргініну в плазмі крові зросла на 59%. Спостерігалось зменшення вмісту продуктів ТБК на 17%, активність СОД незначно зростала, активність каталази поверталась до вихідних значень.

Отже, одноразове введення вітамінів Е та С призводило до зниження загальної активності NO-синтаз, в основному, за рахунок iNOS. Встановлено зниження вмісту продуктів ТБК. Домінування ефекту дії одного з досліджуваних вітамінів не спостерігалось.

N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІН В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ З ДОКСОРУБІЦИНОМ

ГУДЗЬ Є. А., ХМЕЛЬ Т. О., ГОРІДЬКО Т. М., ГУЛА Н. М.

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

N-ацилетаноламіни (NAE) — міnorні сполуки ліпідної природи, що виявлені в багатьох біологічних об'єктах. З літературних джерел добре відомо, що вміст NAE у тканинах різко зростає за різноманітних патологічних станів. Різке збільшення концентрації N-ацилетаноламінів пов'язують з їхніми мембранопротекторними, антиоксидантними та імуномодельючими властивостями. Внаслідок попередніх досліджень нашого відділу було з'ясовано, що N-стеароїлетаноламін (NSE) — один з представників цього класу, здатний гальмувати ріст карциноми Льюїса, зменшувати кількість метастазів та об'єм метастатичного ураження легенів за умов його перорального введення мишам-пухлиноносцям, а також зменшує рівень сечовини та креатинину в комплексному застосуванні з цис-платином. Отримані дані були поштовхом для дослідження ефектів NSE як антитоксичної сполуки для застосування в антипухлинній терапії.

Метою даної роботи було з'ясування можливих антитоксичних ефектів N-стеароїлетаноламіну на організм за умов введення доксорубіцину, який широко застосовується в антипухлинній терапії, але має кардіотоксичні ефекти. Експерименти було проведено на щурах. Ефекти NSE в комплексі з доксорубіцином вивчали за умов перорального введення NSE попередньо до внутрішньоочеревинних ін'єкцій доксорубіцину та під час лікування кардіотоксичним препаратом.

Доксорубіцин призводить до достовірного зростання рівня сечовини у плазмі крові щурів в порівнянні з інтактними тваринами. Введення N-стеароїлетаноламіну попередньо до ін'єкцій доксорубіцину не впливає на рівень сечовини, викликаний доксорубіцином, але використання NSE у комбінації з доксорубіцином призводить до нормалізації рівня досліджуваного метаболіту. Було показано, що введення

доксорубіцину призводить до достовірного збільшення рівня креатиніну у плазмі крові піддослідних тварин у порівнянні з групою інтактних тварин. Введення комбінації доксорубіцину та N-стеароїлетаноламіну не призводить до достовірних змін вмісту креатиніну.

N-стеароїлетаноламін нормалізує рівень активності глутатіонпероксидази у тканині серця щурів, який вірогідно знижувався за умов введення доксорубіцину в порівнянні з групою інтактних тварин. Введення доксорубіцину призводить до зниження активності супероксиддисмутази у тканині серця щурів в порівнянні з групою інтактних тварин. При введенні комбінації доксорубіцину та N-стеароїлетаноламіну спостерігаємо достовірне збільшення активності вище зазначеного ензиму.

Введення доксорубіцину призводить до зростання активності каталази у тканинах серця щурів порівняно з групою інтактних тварин. N-стеароїлетаноламін не впливає на вищезазначені ефекти доксорубіцину щодо активності каталази.

Отримані дані демонструють, що сумісна терапія NSE в комбінації з доксорубіцином знижує рівень сечовини в плазмі крові піддослідних тварин, що вказує на антитоксичні прояви NSE, а модуляція ензимів антиоксидантного захисту за дії NSE може бути ланкою в механізмах реалізації терапевтичних ефектів N-стеароїлетаноламіну.

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ФАГОЦИТУЮЧИХ КЛІТИН КРОВІ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ

ГУЗИК М. М., ШИМАНСЬКИЙ І. О.

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

Відомо, що за цукрового діабету (ЦД) недостатня забезпеченість організму вітаміном D призводить до змін у рівні кальцію периферичної крові та порушення імунного статусу. В той же час особливості взаємозв'язку кальцієвого гомеостазу з системою неспецифічного захисту на сьогодні залишаються недостатньо з'ясованими.

Метою роботи було дослідження функціональної активності фагоцитуючих клітин та вмісту різних форм кальцію у периферичній крові при ЦД 1 типу. У дослідженні використовували щурів-самців лінії Wistar, після 6 тижнів розвитку стрептозотоцинового ЦД, з рівнем глюкози крові $18,9 \pm 1,3$ ммоль/л. Долю активованих сегментноядерних нейтрофілів оцінювали із застосуванням цитохімічного тесту відновлення нітросинього тетразолію та розраховували індекс активації нейтрофілів. Вміст кальцію у сироватці крові визначали спектрофотометрично за кольоровою реакцією з гліюксаль-біс-(2-оксианілем).

Було показано, що цукровий діабет викликає зниження індексу активації нейтрофілів (в 1,2 раза порівняно з контролем) при зростанні на 30% абсолютної кількості лейкоцитів у периферичній крові. Ці зміни можуть свідчити про знижену активність оксидазних систем фагосом, порушений стан окисно-відновної лан-

ки клітинного метаболізму нейтрофілів та вказувати на недостатню ефективність імунного захисту у разі даної патології. Виявлені порушення у функціональному стані нейтрофілів імовірно пов'язані з інтенсифікацією вільнорадикальних процесів та негативною дією на клітини імунної системи продуктів ліпопероксидації плазми крові, оскільки було встановлено більш ніж дворазове підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці за умов діабету. При дослідженні обміну кальцію у діабетичних тварин виявлено зниження у сироватці крові рівнів як загального, так і іонізованого кальцію (відповідно на 15 та 11%), що корелювало зі ступенем порушення фагоцитарної активності нейтрофілів.

Таким чином, діабетичний стан характеризується порушеннями кальцієвого гомеостазу та зниженою реактивністю нейтрофільних гранулоцитів, які беруть участь у первинних ефекторних реакціях неспецифічного імунного захисту, що може спричинювати характерні для захворювання хронічні запальні процеси.

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА СІМ'ЯНИКИ ЩУРІВ ЗА ДІЇ 17 β -ЕСТРАДІОЛУ

ГУЛА Н. М., ШОВКУН С. А., ГРІНЧЕНКО Є. М., ГОРІДЬКО Т. М.,
БАРБОТЬКО О. О., БЕРДИШЕВ А. Г.

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

Відомо, що функція сім'яників може ушкоджуватися при певних патологічних станах, як то стрес, опромінення, ожиріння, різні форми гіпогонадізму, що супроводжуються зростанням рівня естрогенів в організмі. Підвищений рівень естрогенів призводить до активації процесів пероксидації в сім'яниках, що може бути однією із можливих причин пригнічення утворення тестостерону клітинами Лейдіга. В останні десятиріччя встановлені факти участі ендоканабіноїдної системи в регуляції репродуктивної функції в умовах норми та патології. Роль ендогенних канабіноїдів з насиченими жирнокислотними ланцюжками в органах репродуктивної системи не з'ясована. Аналіз біохімічних змін в сім'яниках щурів, які викликані введенням 17 β -естрадіолу (E_2) і можливість коригування цих змін N-стеароїлетаноламіном (NSE) становить мету пропонованої роботи. Ми досліджували продукцію 11-гідроксикортикостероїдів (11-ОКС) і тестостерону в плазмі крові самців щурів при триденному введенні E_2 (в дозі 0,4 мг/кг ваги) на фоні семиденного перорального введення водної суспензії NSE (в дозі 50 мг/кг ваги) та вітаміну Е (в дозі 6 мг/кг ваги). Виявлено, що NSE і вітамін Е попереджують різке зростання рівня 11-ОКС в крові щурів, які отримували E_2 і суттєво зменшують гальмуючий вплив E_2 на утворення тестостерону. Про можливість опосередкованого впливу NSE на сім'яники через модулювання ефектів гормонів системи гіпоталамус-гіпофіз побічно свідчить відновлення ваги аденогіпофізу, яка знижується під впливом E_2 . Активація супероксиддисмутази та каталази в сім'яниках щурів, які отримували E_2 на фоні NSE також свідчить про захисний ефект цієї сполуки, що обумовлює відсутність накопичення ТБК-реагуючих продуктів в тканині сім'яників щурів цієї групи. Слід зауважити, що NSE проявляє більш виражений антиоксидантний ефект порівняно з вітаміном Е.

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ, СТИМУЛИРОВАННОЙ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ КОРДОВОЙ КРОВИ

*ГУЛЕВСКИЙ А. К., МОИСЕЕВА Н. Н., АБАКУМОВА Е. С.,
ГОРИНА О. Л., ЩЕНЯВСКИЙ И. И., НИКОЛЬЧЕНКО А. Ю.,
ИВАНОВ Е. Г.*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;
e-mail: moiseeva-nataly.rambler.ru*

На сегодняшний день известно, что компоненты кордовой крови (плазма и сыворотка) стимулируют репаративно-регенерационные процессы в патологически изменённых тканях. В условиях, ограничивающих нормальные функции энергетического метаболизма в поврежденных тканях (гипоксия, активация свободно-радикального окисления, недостаток субстратов), и при повышенном потреблении энергии (репарация) компоненты кордовой крови активируют энергетические процессы путем увеличения транспорта глюкозы, кислорода и усиления их внутриклеточной утилизации, что важно для полноценного протекания восстановительных процессов. Вместе с тем следует отметить, что биологическая активность низкомолекулярных составляющих кордовой крови изучена недостаточно. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение влияния низкомолекулярных компонентов кордовой крови (до 5 кДа) на биохимические показатели репаративной регенерации в патологически изменённых тканях.

При изучении биохимических аспектов репаративного действия низкомолекулярных компонентов кордовой крови на модели термического ожога III В степени было отмечено, что в/м введение низкомолекулярной фракции кордовой крови (ФКК) способствовало нормализации содержания ТБК-активных продуктов и активности щелочной фосфатазы в крови экспериментальных крыс, восстановлению содержания глюкозы и снижению соотношения лактат/пируват в ткани раны, свидетельствующем об интенсификации аэробного пути метаболизма глюкозы. Очевидно, эти эффекты объясняют ранее выявленное стимулирующее влияние ФКК на процессы репаративной регенерации кожи: формирование зрелой грануляционной ткани, пролиферацию фибробластов, эпителизацию раневого дефекта.

Введение ФКК экспериментальным животным после моделирования субхронической язвы желудка способствовало нормализации содержания ТБК-активных продуктов и активности щелочной фосфатазы в крови и стимулировало биосинтез гликозаминогликанов, что ускоряло репаративные процессы, поскольку глюкозамин, который входит в качестве структурной единицы в макромолекулу фибронектина, положительно влияет на процесс репарации.

Установлено, что внутримышечное введение ФКК крысам после механического повреждения коленного хряща стимулирует в ходе регенерации хрящевой ткани накопление основных компонентов матрикса: гиалуроновой кислоты, хондроитина сульфата и гексозамина, а также важнейших аминокислот — оксипролина и тирозина, отражающих содержание коллагеновых и неколлагеновых элементов хрящевой ткани. Показано, что введение ФКК нормализует электролитный обмен

ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , а также концентрацию эндотелина, трийодтиронина в крови экспериментальных крыс.

В экспериментах *in vitro* установлено, что добавление ФКК в среду инкубации подвергнутых криоконсервированию лейкоцитов стимулирует фагоцитарную активность и кислородзависимый метаболизм деконсервированных нейтрофилов.

Таким образом, установлено стимулирующее влияние низкомолекулярных компонентов кордовой крови на репаративно-регенерационные процессы, что обусловлено нормализацией ключевых биохимических процессов в крови и тканях экспериментальных животных.

VITAMIN D DEFICIENCY: THE LEVEL OF CHOLESTEROL IN BRAIN AND EXOCYTOSIS

GUMENYUK V., LOTOTSKAYA E., TRIKASH I.

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

Accumulating data have provided evidence that vitamin D₃ is involved in brain function. Developmental vitamin D₃ deficiency (VDD) caused a deregulation of processes providing fine-tuning neurotransmission and synaptic plasticity. The SNARE proteins, potential membrane fusion catalysts, are partially localized in plasma membrane lipid microdomains enriched in cholesterol. Growing body of evidence suggest that cholesterol regulates SNARE function and, hence, exocytosis. The present investigation was aimed at studies on the role of cholesterol at the last step of exocytosis that is a Ca^{2+} -triggered fusion of synaptic vesicles (SVs) with the presynaptic plasma membranes (PMs).

We determined the changes in cholesterol level of synaptosomal plasma membranes caused by VDD. The 25-OH D₃ concentration in serum was detected for screening of vitamin D₃ deficiency in rats. The calcium-triggered fusion of SVs with PMs isolated from the rat brain synaptosomes with VDD was tested. To evaluate the role of cholesterol in the process of membrane fusion the synaptosomal PMs isolated from control rats were saturated by cholesterol using mixture of methyl- β -cyclodextrin (MCD) and cholesterol in molar ratio 8 : 1.

Fusion experiments were performed using fluorescent dye octadecylrhodamine B (R18), which was incorporated into synaptic vesicle membranes at self-quenching concentration. The fusion of SVs, containing marker R18, with PMs was detected by dequenching of the probe fluorescence.

Vitamin D-deficiency led to the increase of cholesterol level in plasma membranes of synaptosomes to $16 \pm 3\%$. It was found that the rate of fusion of SVs with PMs in the presence of Ca^{2+} and cytosolic fraction of synaptosomes was 20.5% from max fluorescence at 3 min in VDD rats while in the control rats this parameter was about 27%. Such a reduction in fusion is suggested to be associated with the increase of the level of cholesterol in PMs. When synaptosomal PMs were treated with mixture of MCD:cholesterol, the cholesterol content increased to $30 \pm 4\%$. Under the saturating conditions the rate of Ca^{2+} -triggered membrane fusion decreased by 25% (from control) and was similar to fusion of membrane structures from the brain synaptosomes of VDD rats.

These results provide the evidence that cholesterol is the modulator of membrane fusion process. Abnormality of membrane cholesterol in synaptosomes at VDD state can be the potential basis for impairing of membrane fusion process that leads to neuronal dysfunction in patients with this pathology.

СТИМУЛЯЦИЯ КАТАБОЛИЗМА ЭНДОГЕННЫХ АЛЬДЕГИДОВ – НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В ПОВЫШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА К СТРЕССУ

ДАВЫДОВ В. В., ШВЕЦ В. Н.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей
и подростков АМН Украины», Харьков;
Запорожский государственный медицинский
университет, Украина;
e-mail: vaddavydov@mail.ru*

Важную роль в формировании стрессовых повреждений клеток тканей внутренних органов приобретает повышение в них интенсивности процессов свободнорадикального окисления. В этой связи к настоящему времени сформировались устойчивые представления о том, что защита от стресса может эффективно обеспечиваться усилением мощности антиоксидантной системы при введении экзогенных антиоксидантов. Однако, в результате всесторонних клинических исследований не было установлено ожидаемого эффекта от применения антиоксидантных препаратов. Одной из причин может быть установленная в многочисленных исследованиях последних лет физиологическая роль свободных радикалов в формировании адаптивных процессов в клетках. В свою очередь, важную роль в реализации повреждающих эффектов оксидативного стресса играют многочисленные карбонильные продукты обмена, которые образуются в процессе свободнорадикального окисления липидов, протеинов, нуклеиновых кислот и углеводов. Наиболее широко они представлены эндогенными альдегидами. Обладая выраженными цитотоксическими и генотоксическими эффектами, альдегиды выступают в роли своеобразных вторичных посредников алтерации клеток. Их содержание при стрессе существенно возрастает. Более того, результаты наших предварительных исследований показали, что при стрессе в тканях внутренних органов формируются метаболические предпосылки для зависимого от возраста ограничения скорости утилизации карбонильных продуктов свободнорадикального окисления в ферментативных реакциях. В этой связи для защиты от стрессового повреждения представляется перспективным проведение мероприятий, направленных на повышение скорости катаболизма эндогенных альдегидов в клетках тканей внутренних органов. Стимуляция катаболизма эндогенных альдегидов может быть достигнута путем усиления биосинтеза энзимов, участвующих в их катаболизме. Особое значение при этом приобретают воздействия, направленные на повышение скорости экспрессии генов глутатионтрансферазы, как энзима, катализирующего основной путь катаболизма карбонильных продуктов свободнорадикального окисления, а также альдегидредуктазы, катализирующей их восстановление в алкоголи.

ДИХЛОРАЦЕТАТ НАТРІЮ АКТИВУЄ АПОПТОЗ В ПУХЛИННИХ КЛІТИНАХ

¹ДАСЮКЕВИЧ О. Й., ²СКОПЕНКО О. В.

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

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: olga_dix@pisem.net

Одним із ефектів в пухлинних клітинах є гальмування окислювального фосфорильовання в мітохондріях, обумовлених гіпоксією та запуск гліколізу. Відповідно, в пухлинних клітинах порушуються механізми, пов'язані із запуском апоптозу та відбувається перехід на нерегульований механізм проліферації. Останнім часом широко досліджується дихлорацетат натрію (DCA) в якості агента, який активує мітохондріальні ензими в пухлинних клітинах, а також є проапоптичним засобом.

Метою даної роботи було визначення показника апоптичних клітин, одержаних із первинних пухлин під впливом дихлорацетату натрію.

Дослідження проводили на клітинах, одержаних із первинних пухлин (перешеплюваних карциномою Льюїса та солідного варіанту карциноми Ерліха) після введення експериментальним тваринам дихлорацетату натрію в дозі 25 мг/кг ваги тварин.

Було виявлено, що в пухлинних клітинах, отриманих від тварин після введення DCA, зростає показник апоптичних клітин: карцинома Ерліха 19,7% проти 5,5% в контролі; карцинома Льюїса 21,4% проти 7,8% в контролі. а також зменшується кількість клітин в фазі синтезу ДНК.

Таким чином, проведені попередні дослідження вказують на модулюючий вплив DCA на рівень апоптозу в пухлинних клітинах.

ВПЛИВ МЕЛАНІНУ НА ПРООКСИДАНТНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ШЛУНКОВОЇ ГІПОХЛОРІДРІЇ

ДВОРЩЕНКО К. О., БЕРЕГОВА Т. В.

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

За даними літератури довготривале застосування блокаторів протонної помпи парієтальних клітин шлунка при лікуванні пацієнтів з хронічною езофагальною рефлюксною хворобою є фактором ризику розвитку гострих панкреатитів (ГП) (Eland I., 2000). Провідна роль у розвитку ГП належить окисному стресу, який розвивається внаслідок гострої локальної гіпоксії та ішемії тканин. Для відновлення окисно-антиоксидантної рівноваги необхідне поповнення в клітинах антиоксидантів. Антиоксидантними властивостями володіють меланіни, які належать до класу конденсованих фенольних сполук. Завдяки особливостям своєї структури вони мають властивість поглинати та стабілізувати новоутворені активні форми кисню.

Тому метою роботи було оцінити вплив меланіну на процеси пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) у підшлунковій залозі (ПЗ) щурів за умов тривалого пригнічення шлункової секреції соляної кислоти.

Досліди проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях. Гіпоацидний стан моделювали внутрішньочеревним (в/ч) введенням 14 мг/кг омепразолу (1 раз на добу) протягом 28 діб. Щурам другої групи одночасно з омепразолом перорально вводили меланін у дозі 5 мг/кг, який є продуктом життєдіяльності чорних дріжджів *Nadsoniella nigra*. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, шиффових основ — флуориметричним методом. Вміст ТБК-активних сполук визначали по реакції з тіобарбітуровою кислотою.

Встановлено, що за умов шлункової гіпохлоргідрії у ПЗ зростає вміст продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів — в 1,9 раза, ТБК-активних продуктів — у 2,5 раза та шиффових основ — у 2 рази відносно контролю. У разі введення щурам з гіпоацидним станом меланіну спостерігалось зниження рівня продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів — в 1,5 раза, ТБК-активних продуктів — в 1,9 раза та шиффових основ — в 1,6 раза відносно групи тварин, яким вводили омепразол.

При довготривалій шлунковій гіпохлоргідрії у ПЗ посилюються процеси вільнорадикального окислення ліпідів, що свідчить про недостатність функції антиоксидантного захисту ацинарних клітин. Меланін відновлює порушену окисно-антиоксидантну рівновагу у ПЗ щурів з тривалим пригніченням секреції НСІ.

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ КРОВІ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТУ

ДЕМКІВ І. Я., ЛІСНИЧУК Н. Є., КУЛІЦЬКА М. І.

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського», Центральна науково-дослідна
лабораторія, Україна;
e-mail: iria_ternopil@mail.ru*

Ураження підшлункової залози посідає важливе місце і є актуальною медико-біологічною проблемою сьогодення. Метою даної роботи було дослідження особливостей перебігу пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), стану антиоксидантної системи (АОС) організму та рівня ендогенної інтоксикації за умов експериментально змодельованого кріогенного панкреатиту різної тривалості (2, 7, 14 доби). У експерименті використано 70 безпородних статевозрілих щурів-самців.

На тлі експериментального кріогенного панкреатиту на 2, 7 та 14 добу експерименту спостерігалось достовірне зростання еритроцитарного індексу інтоксикації у 2,0; 1,8 та 2,1 раза відповідно порівняно з інтактними тваринами. В цих експериментальних умовах відмічалось нагромадження середньомолекулярних пептидів (СМП), які також є маркерами ендогенної інтоксикації. Проведені дослідження показали, що ураження тварин призводить до збільшення фракції СМП з більшою ММ, які, очевидно, є продуктами деградації протеїнів—ензимів, нуклеотидів

та структурних протеїнів, внаслідок чого спостерігалось достовірне зростання коефіцієнту середньомолекулярних пептидів ($K_{\text{смп}}$) на 2 та 7 добу експерименту: у 1,2 та 1,4 раза відповідно, порівняно з аналогічним показником в групі інтактних тварин. Ураження підшлункової залози піддослідних тварин призводить до суттєвого зростання вмісту малонового діальдегіду на 7 та 14 добу експерименту в 7,0 та 5,4 раза відповідно порівняно з інтактними тваринами. Вміст дієнових кон'югатів зростає протягом усього експерименту. Активність каталази достовірно зростала на 2, 7 та 14 добу експерименту у 1,8, 1,9 та 5,1 раза відповідно. Також спостерігалось статистично значиме зростання пероксидазної активності крові на 2, 7 та 14 добу спостереження у 2,4, 1,9 та 1,2 раза відповідно порівняно з аналогічним параметром у інтактних тварин. Активність супероксиддисмутази (СОД) достовірно зростала у всі терміни спостереження. На 2 добу спостереження активність СОД становила $0,410 \pm 0,008$ ум.од./мг, що в 3,7 раза більше порівняно з аналогічним показником в групі інтактних тварин. На 7 і 14 добу експерименту активність СОД дещо знижується, проте і надалі перевищує аналогічний показник у інтактних білих щурів у 2,8 та 1,7 раза відповідно. Результати проведених досліджень свідчать про те, що експериментальний кріогенний панкреатит різної тривалості супроводжується суттєвими порушеннями функціонування АОС, вираженою активацією ПОЛ та зростанням показників ендогенної інтоксикації.

ВЛИЯНИЕ АМИКСИНА НА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКУЮ ПОДВИЖНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ СЕЛЕЗЕНКИ МЫШИ

¹ДОЛГАЯ Е. В., ¹ПОГОРЕЛАЯ Н. Х.,
²БОГОРАД-КОБЕЛЬСКАЯ Е. С., ¹МАГУРА И. С.

¹Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев;

²Институт микробиологии и вирусологии
им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;
e-mail: dolgaya@biph.kiev.ua

Индуктор интерферона (ИФН) амиксин относится к новому перспективному поколению лекарственных препаратов, которые вызывают в организме продукцию эндогенного ИФН. Амиксин обладает антивирусной, интерферониндуцирующей, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью. Благодаря указанным свойствам, он успешно применяется в онкологии, клинической иммунологии, при инфекционных заболеваниях различной этиологии.

Начальный этап интерфероногенеза — взаимодействие амиксина с плазматической мембраной — и его роль в последующей передаче сигнала для экспрессии генов ИФН остаются недостаточно изученными. Амиксин относится к катионным амфифильным аминам. Такое химическое строение позволяет ему эффективно воздействовать на мембрану и легко проникать через нее. Важную роль в этих процессах играет поверхностный заряд клетки. Согласно современным представлениям поверхностный заряд участвует в регуляции множества процессов, среди которых адгезия клеток, их взаимодействие между собой и с внеклеточным матриксом, деление и дифференцировка клеток, продукция монокинов. Изменение величины

поверхностного заряда приводит к нарушению функции клеток и развитию патологий. Исследование эндогенных и фармакологических механизмов регуляции плотности поверхностного заряда является актуальной задачей.

Особый интерес представляет изучение влияния амиксина на поверхностный заряд Т-лимфоцитов, изменение величины которого может оказывать влияние на взаимодействие Т-лимфоцитов с другими иммунокомпетентными клетками, в частности, В-лимфоцитами, и, следовательно, иметь большое значение для регуляции иммунного ответа.

Методом клеточного электрофореза показано, что в первые часы под влиянием амиксина достоверно увеличивается абсолютная величина ЭФП Т-лимфоцитов по сравнению с контрольным значением. Эффект амиксина зависел от его концентрации в инкубационной среде и длительности воздействия. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что активированные амиксином клетки имеют больший поверхностный заряд, чем контрольные. Это позволяет предположить, что взаимодействие амиксина с поверхностью Т-лимфоцитов приводит к модификации молекулярной структуры их плазматической мембраны.

ВНЕШЕСЕКРЕТОРНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ И СОСТОЯНИЕ ЕЕ РЕГУЛЯТОРНОГО ЗВЕНА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ БЕСКАМЕННОМ ХОЛЕЦИСТИТЕ

*ДОМАШНЕВА Н. А., КЛЕНИНА И. А.,
СОГИНА Т. Н., ЯГМУР В. Б.*

*ГУ «Институт гастроэнтерологии АМН Украины», Днепропетровск;
e-mail: inklenina@yandex.ru*

В регуляции желчеобразования и желчевыделения ведущая роль принадлежит гастроинтестинальным гормонам — секретину и в большей степени холецистокинину, который влияет не только на моторику желчевыводящих путей, но и оказывает мощный холеретический эффект на желчеобразовательную функцию гепатоцитов.

Целью работы было выяснить зависимость изменений биохимического состава желчи у больных хроническим бескаменным холециститом (ХБХ) от реакции эндогенного холецистокинина (ХЦК) на стимуляцию.

Изучали состав желчи в двух группах больных ХБХ: в первой группе исследований (I) 41 больной со сниженным уровнем эндогенного ХЦК после стимуляции, во второй (II) — 28 пациентов с нормальным содержанием ХЦК. В желчи определяли холестерол, билирубин, фосфолипиды, суммарное содержание желчных кислот и их спектр (тауроходевая, тауродиоксихолановые, гликохолевая и гликодиоксихолановые кислоты).

При сопоставлении полученных данных обнаружено, что в печеночной порции желчи больных II группы достоверно повышен уровень холестерина и билирубина в 2,1 раза, фосфолипидов — в 1,4 раза. Общее содержание желчных кислот повышено в 3,3 раза, а их отдельные фракции — тауро- и глико-конъюгаты в 1,5 раза. В пузырной желчи существенные изменения выявлены только в содержании общих

(повышены в 1,5 раза) и тауроконъюгированных фракций (таурохолевая кислота повышена в 1,9 раза, тауродиоксихолановые кислоты в 1,6 раза).

Таким образом изменения гормонального фона вследствие нарушения выработки эндогенного ХЦК является важной причиной расстройства внешнесекреторной функции печени. Стимуляция эндогенного ХЦК способствует увеличению секреции отдельных компонентов желчи и выбросу желчи с высоким содержанием желчных кислот, особенно тауроконъюгированных фракций.

БИОХИМИЯ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ХАРАКТЕРА В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

ДОНЧЕНКО Л. И.

*НИИ травматологии и ортопедии Донецкого национального
медицинского университета им. М. Горького, Украина;
e-mail: Donch@rambler.ru*

Исследование возрастных особенностей процессов метаболизма в динамике развития осложнений воспалительного характера после тяжелой механической травмы является основой разработки алгоритма их прогноза и ранней дифференциальной диагностики, что и явилось целью данной работы.

У 72 пострадавших в возрасте 15–44 и 45–64 лет в период 1-ых, 7-ых и 14-ых суток после травмы исследовали в сыворотке крови содержание протеинов, продуктов их обмена, активность аминотрансфераз и лизосомальных энзимов. Из общего количества обследованных выделены две группы: 1-я группа — больные с висцеральными осложнениями — 21 человек, 2 группа — больные с местными осложнениями — 23 человека. В контрольную группу вошли 28 больных с неосложненным течением посттравматического периода. Все группы пострадавших были сопоставимы по тяжести и характеру повреждений опорно-двигательного аппарата.

Установлено, что в 1-е сутки у пострадавших всех выделенных групп отмечались характерные для острого периода травмы гипопротеинемия, гипоальбуминемия, повышение содержания в сыворотке крови глобулинов класса альфа, мочевины, креатинина и мочевой кислоты, а также показателей активности аминотрансфераз и лизосомальных энзимов. При однонаправленности изменений биохимических показателей у пострадавших выделенных групп отмечены различия, определившие дальнейшее течение посттравматического периода. Так, в группе больных с висцеральными осложнениями в сравнении с контролем и пострадавшими с местными осложнениями установлены достоверно более низкие показатели альбуминов и более высокие показатели глобулинов класса альфа и гамма, мочевины, мочевой кислоты, а также более высокие показатели активности аминотрансфераз и лизосомальных энзимов. Установлено, что у пострадавших в возрасте 15–44 года в сравнении с пострадавшими в возрасте 45–64 года в меньшей степени выражена гипопротеинемия и гипоальбуминемия и выше активность аминотрансфераз и лизосомальных энзимов.

Выявленные различия биохимических показателей между группами больных сохранялись и в период 7–14 суток после травмы. Но при этом следует отметить, что к концу исследования динамика изменений биохимических показателей по отношению к 1-м суткам у пострадавших выделенных групп различна. Так, в группе больных с висцеральными осложнениями отмечается дальнейшее снижение в сыворотке крови уровня общего протеина, альбуминов и повышение мочевины, креатинина и мочевой кислоты. На уровне острого периода травмы были показатели глобулинов класса альфа и гамма, т.е. воспалительный процесс имеет прогрессирующий характер. Напротив, в группе пострадавших с местными осложнениями отмечена выраженная тенденция к нормализации биохимических показателей.

Таким образом, особенности метаболических процессов в остром периоде травмы определяют дальнейшее течение посттравматического периода и имеют информативную ценность в плане прогноза развития осложнений воспалительного характера.

ПРОТИПУХЛИННА ДІЯ ПОХІДНИХ ПОРФІРИНІВ – ЛІГАНДІВ G-КВАДРУПЛЕКСНИХ СТРУКТУР ТЕЛОМЕРНОЇ ДНК

¹ДУБЕЙ Л. В., ²ПОГРІБНИЙ П. В., ¹ДУБЕЙ І. Я.

¹Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ;

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;
e-mail: dubey@imbg.org.ua

Метою роботи було отримання нових протипухлинних сполук на основі похідних порфіринів, що ефективно зв'язуються з G-квадруплексною ДНК, та вивчення їхньої біологічної дії. Система теломерази є важливою мішенню протипухлинної терапії. В пухлинних клітинах її активність різко зростає порівняно з нормальними, що зумовлює неконтрольовану проліферацію. Теломеразу інгібують специфічні ліганди так званих G-квадруплексних структур теломерної ДНК, що веде до загибелі ракових клітин.

Отримано похідні тетра(метилпіридиній)порфірину (*TMPyP*), який є ефективним інгібітором теломерази, та феофорбід *a*, що також специфічно взаємодіє з теломерною ДНК. Синтезували кон'югат *TMPyP* з інтеркалятором імідазофеназином, його комплекси з іонами Zn^{2+} і Mn^{3+} та катіонну похідну феофорбід *a*, яка містить триметиламонійну групу (*CatPheo*). Вивчено їхню антипроліферативну активність у концентраціях 10–200 мкМ на культурі клітин карциноми Льюїса мишей (лінія CCL) методом включення радіоактивної мітки [3H]-тимідину. Після 24 год інкубації при 37 °C у середовищі RPMI 1640, що містило 5% FBS (Fetal Bovine Serum), на сцинтиляційному аналізаторі визначали кількість включеної мітки, що пропорційна кількості живих клітин. Рівень інгібування відповідає вмісту загиблих клітин порівняно з контролем. Встановлено значення IC_{50} препаратів (концентрація, що забезпечує пригнічення 50% клітин).

Всі сполуки продемонстрували майже лінійну залежність рівня інгібування від логарифму концентрації. *CatPheo* не виявляє значної протипухлинної дії ($IC_{50} > 300$ мкМ). Кон'югати *TMPyP* показали високу активність, причому металокомплекси значно активніші, ніж вільний кон'югат. Повне пригнічення останнім досягалося в концентрації ~ 200 мкМ (IC_{50} 22 мкМ), тоді як комплекс Mn демонстрував 75% інгібування при 50 мкМ, а комплекс Zn в цій же концентрації повністю пригнічує ріст клітин. Величини IC_{50} цих комплексів становить відповідно 11 та 6 мкМ.

Показано, що кон'югати катіонного порфірину *TMPyP* ефективно інгібують ріст пухлинних клітини *in vitro* в мікромольних концентраціях. За своєю активністю (IC_{50}) похідні *TMPyP* порівнянні з відомими протипухлинними препаратами доксорубіцином та вінкристином.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКОПЛАЗМ К ДЕЙСТВИЮ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО АДАМАНТАНА ЮК-23

¹ДУДИКОВА Д. М., ²МАЛИНОВСКАЯ Л. П., ²КОРОБКОВА Е. С.,
¹ВРЫНЧАНУ Н. А., ¹МИЩЕНКО О. В., ³КОРОТКИЙ Ю. В.

¹ГУ «Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины», Киев;

²Институт микробиологии и вирусологии

им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;

³Институт органической химии НАН Украины, Киев;

e-mail: darmardud@gmail.com

В настоящее время актуальной проблемой фармакологии является разработка новых лекарственных препаратов для профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Необходимость их внедрения в клиническую практику обусловлена снижением эффективности современных антимикробных средств. Нерациональное использование антиинфекционных агентов (нерациональное по дозам, схемам лечения, назначение без определения чувствительности возбудителя и т.д.) способствовало возникновению и распространению резистентных штаммов микроорганизмов. Поиск новых активных соединений проводится среди веществ природного и синтетического происхождения. В этом плане внимания заслуживают производные адамантана. Адамантансодержащие вещества обладают широким спектром биологической активности. На их основе разработаны и внедрены в клиническую практику препараты для профилактики и лечения гриппа (мидантан, ремантадин, адапролол и др.), заболеваний нервной системы (мемонтин). Клинические испытания проходит ладастен — препарат, обладающий психостимулирующими свойствами. Адамантансодержащие вещества проявляют антибактериальное и антифунгальное действие. Ингибирующая активность в отношении широкого спектра микроорганизмов обнаружена у нового производного аминокислоты адамантана — ЮК-23 (Дудикова Д. М., Врынчану Н. А., 2009). В ГУ «Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины» на основе адамантансодержащего вещества АМ-166 разработана мазь («адамикрин») для лечения гнойных ран. Механизм антибактериальной и антифунгальной активности адамантансодержащих веществ в настоящее время не установлен.

Целью данной работы было исследование мембранотропного эффекта производного адамантана ЮК-23.

Изучение ингибирующего действия соединения ЮК-23 проведены по отношению к *Acholeplasma modicum* Zeach 1973 (ATCC 29102, NCTC 10134) методом серийных разведений в жидкой питательной среде СМ ИМВ-72. Плотность инокулята составляла 109 КОЕ/мл среды. Пробирки инкубировали при 32 °С в течение 72 часов. За минимальную подавляющую концентрацию (МПК) принимали таковую, при которой визуально не отмечался рост микроорганизмов.

Проведенные исследования показали, что соединение ЮК-23 в концентрации 6,25 мкг/мл угнетает жизнедеятельность тест-штамма *Acholeplasma modicum* Zeach 1973.

Полученные данные свидетельствуют о наличии у адамантансодержащего вещества ЮК-23 мембранотропных свойств. В дальнейшем необходимо изучить влияние адамантансодержащего вещества на мембраносвязанные ферменты бактерий и грибов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЯКИХ ІОННИХ ТРАНСПОРТЕРІВ ЕРИТРОЦИТІВ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ АЛКОГОЛІЗМ

¹ДУДОК К. П., ²ГУЛЬ А. Л., ²МОРОЗ О. М.,
¹СТАРИКОВИЧ Л. С., ¹СИБІРНА Н. О.

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;

²Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: biolog@franko.lviv.ua

Попередніми дослідженнями встановлено, що в еритроцитах крові хворих, які страждають на хронічний алкоголізм, спостерігаються порушення функціонування Na-транспортувальних систем, що потребує корегування водно-електролітного балансу, спрямованого на попередження або подолання небезпечного для клітин хворого набубнявіння або зморщення клітин. Підтримання іонного гомеостазу за участі Na-транспортувальних механізмів забезпечує ефективне функціонування багатьох життєвоважливих процесів. Тому виявлення змін у перерозподілі іонів крові є важливим для діагностики, а їхнє усунення — для вибору лічної тактики.

Об'єктом дослідження були незалежні від функціонування Na⁺, K⁺-АТФ-ази Na-транспортувальні механізми: Na⁺, K⁺, Cl⁻-котранспортування та Na⁺/Li⁺-протитранспортування крізь еритроцитну мембрану. Швидкість Na⁺, K⁺, Cl⁻-котранспортування визначали як різницю концентрацій іонів Na⁺ у початковий та завершальний періоди інкубації еритроцитів, за наявності транспортних інгібіторів — овабаїну та фуросеміду, а швидкість Na⁺/Li⁺-протитранспортування — за тих же умов, але за присутності у середовищах інкубації хлористого літію.

Специфічність впливу етанолу на організм хворих алкоголізмом полягає у прямій залежності інтенсивності обміну іонів за посередництвом Na⁺, K⁺, Cl⁻-котранспортування від ступеня алкоголізації, що свідчить про небезпеку токсичного впливу позаклітинного K⁺, і зворотній за посередництвом Na⁺/Li⁺-протитранспортування, що зумовлює надмірне накопичення внутрішньоклітинного Na⁺.

Одержані результати засвідчують, що Na^+ , K^+ , Cl^- -котранспортери, при посередництві яких здійснюється переміщення іонів Na^+ в еритроцитах осіб, що страждають на хронічний алкоголізм, найбільшу чутливість проявляють до модулюючого впливу осмоляльності позаеритроцитного середовища. Встановлення чутливості вказаних іон-транспортуючих механізмів під час клінічного обстеження хворого на хронічний алкоголізм може служити корисним індикатором при аналізі розмаїття шкідливого впливу алкоголю на еритроцитну мембрану; їхнє співставлення з результатами клінічних обстежень сприяють обґрунтуванню застосування у осіб, які страждають на хронічний алкоголізм, методів лікування, що базуються на необхідності корекції водно-електролітного обміну.

ВПЛИВ АДРЕНАЛІНУ НА ПОКАЗНИКИ ВУГЛЕВОДНОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

ЕРСТЕНЮК А. М., ШКУРАШІВСЬКА С. В.

*Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
Івано-Франківський коледж фізичного виховання, Україна;
e-mail: overnayt@gmail.com*

Тривалі та періодичні стреси, що виникають унаслідок дії на організм несприятливих чинників довкілля або психоемоційних перевантажень сприяють розвитку патологічних процесів. Недостатньо вивченими залишаються питання біохімічних механізмів адаптації до різного роду стресових чинників.

Для моделювання стресової ситуації проведено експериментальні дослідження на білих щурах лінії Вістар масою 130–150 г, яким вводили адреналін підшкірно з розрахунку 0,05 мг на кг маси тіла. Матеріал для дослідження (кров та печінку) забирали під тіопенталовим ефіром. Метаболізм вуглеводів оцінювали за рівнем глюкози, який визначали глюкозооксидазним методом, концентрацію пірувату за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином, концентрацію лактату – за реакцією з параоксидифенілом. Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), концентрацію триацилгліцеролів (ТАГ) та рівень холестеролу (ХЛ) за допомогою наборів реактивів серії «Вітал-Європа». Статистичну обробку одержаних даних проводили за допомогою комп'ютерної програми «MYNOVA».

У роботі представлені результати досліджень показників вуглеводного та ліпідного обміну через 30 хв після введення адреналіну. У крові піддослідних тварин спостерігалось підвищення рівня глюкози на 16% у порівнянні до інтактних тварин, концентрація пірувату перебувала в межах значень контрольної групи, водночас відмічено істотне (у 2 рази) зростання вмісту лактату. Дослідження активності ЛДГ дозволило встановити зростання активності цього ензиму в плазмі крові тварин на 14% відносно показників інтактних тварин. Стосовно метаболітів ліпідного обміну, слід зазначити підвищення концентрації ТАГ у плазмі крові на 30% на фоні зниження вмісту ХЛ у 2 рази. Проведені нами дослідження гомогенату печінки щурів вказують на порушення зі сторони обміну вуглеводів, які проявлялись зниженням рівня глюкози та лактату на фоні стабільної концентрації пірувату.

Рівень ТАГ зазнавав незначних відхилень від показників інтактних тварин, однак необхідно підкреслити, що при цьому спостерігається зростання концентрації холестеролу майже у 2 рази.

Одержані нами результати вказують на різнонаправлений характер метаболічних змін в організмі експериментальних тварин за умов адреналінового стресу і спонукають до подальшого вивчення реакції-відповіді організму в динаміці стресової ситуації.

ОСОБЛИВОСТІ КОРЕЛЯЦІЙНИХ ЗВ'ЯЗКІВ МІЖ ПАРАМЕТРАМИ АЕРОБНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА ВАРІАБЕЛЬНІСТЮ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У ПАЦІЄНТІВ З РІЗНИХ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ГРУП: ТЕОРЕТИЧНІ ТА ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ

*ЄЛІСЄЄВА О. П., СЕМЕН Х. О., ЧЕРКАС А. П.,
КАМІНСЬКИЙ Д. В., ЛУЦИК О. Д.*

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: yelisol@gmail.com*

За останні 10–15 років уявлення про роль вільнорадикальних реакцій (ВРР) суттєво змінились від переважних тверджень про їхню шкідливість до розуміння їхнього значення для механізмів редокс-сигналізації, індукції антиоксидантного захисту (АОЗ) тощо. Однак недостатньо враховується можливість стимулювати ВРР слабкими, прооксидантними впливами, які підвищують інтенсивність окисно-відновних реакцій та посилюють флуктуації ендogenousного метаболічного кисню.

Метою роботи було вивчення впливу олії з насіння амаранту (ОАм) на зміни кореляційних зв'язків між параметрами аеробного метаболізму та варіабельності серцевого ритму (ВСР) у хворих на цукровий діабет 2-го типу (ЦД 2Т) та атлетів високої кваліфікації. У дослідженні приймали участь 18 хворих на ЦД 2Т (вік 51–67 років, тривалість хвороби до 5 років, група 1) та 24 атлети національного рівня, КМС та МС (вік 18–36 років, група 2). Пацієнти групи 1 на додаток до стандартного лікування щоденно отримували ОАм (1 мл на 60 кг ваги, натще) протягом одного місяця, а атлети групи 2 ОАм у тій же дозі впродовж трьох тижнів. До та після добавок ОАм у сироватці крові спектрофотометрично оцінювали параметри аеробного метаболізму (активності каталази, супероксиддисмутази (СОД), рівні малонового діальдегіду (МДА), гідропероксидів, ліпопротеїнів низької густини (β -ЛП), окисно-модифікованих протеїнів (ОМП) та середньомолекулярних пептидів (СМП) та реєстрували часові і спектральні параметри ВСР (ВНС-Мікро, Нейрософт®, РФ). Для оцінки взаємозв'язків досліджуваних параметрів використовували коефіцієнт лінійної кореляції (r).

Виявлено значні ознаки ОС у хворих на ЦД 2Т (суттєво підвищені рівні продуктів окисної деструкції), незважаючи на високу активність каталази і СОД, що супроводжується зниженими параметрами ВСР. У групі атлетів також виявлено певні ознаки ОС, однак показники ВСР були суттєво вищими, що відображає

підвищену стійкість до ОС з елементами мобілізаційної фази адаптації Застосування ОАм призвело до незначної активації аеробного обміну у пацієнтів групи 1, відмічено також лише тенденцію до зменшення продуктів окисної деструкції із достовірною нормалізацією активності СОД. У групі 2 (атлети) спостерігали ефективну утилізацію МДА, достовірне, але не повне зниження ОМБ та СМП, нормалізацію активності каталази і дещо підвищену активність СОД. Моніторинг параметрів ВСР показав суттєвіші зміни досліджуваних параметрів після впливу ОАм, ефективніше виражені у групі атлетів.

Аналіз кореляційних взаємозв'язків виявив більшу кількість достовірних кореляцій у групі атлетів. Утім характер цих зв'язків у обох групах був різним, що вказує на важливу роль окисного метаболізму у формуванні ритму серця. Слід відзначити характерне зникнення кореляцій, особливо обернених, які пов'язані зі зниженням параметрів ВСР, після застосування ОАм у всіх досліджуваних групах, що свідчить про певні механізми формування вищої ВСР в умовах активації аеробного метаболізму.

СОДЕРЖАНИЕ ГЛУТАТИОНА В КРОВИ ПРИ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

ЖАДАН В. Н., КОРЖОВ М. В.

*ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии
им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины», Киев;
e-mail: zhadan@ifp.kiev.ua*

В регуляции процесса накопления продуктов пероксидного окисления липидов, в защите организма от токсического действия различных веществ эндогенного и экзогенного происхождения основную роль играет глутатион-зависимая ферментная система. Надежным критерием состояния системы детоксикации и антиоксидантной защиты может служить уровень восстановленного глутатиона.

Цель работы — изучить в эксперименте особенности динамики количества восстановленного глутатиона (ВГ) в эритроцитах в условиях экспериментальной бактериальной пневмонии, хронического бронхита и пневмосклероза.

Работа выполнена на 55 белых беспородных крысах-самцах. Для создания модели бактериальной пневмонии животным интратрахеально вводили суточную культуру *Enterococcus faecalis*. Экспериментальный хронический бронхит вызывали путем трансторакального введения в паренхиму легкого спиртового раствора туши с последующим одноразовым введением суспензии куриных эритроцитов. Пневмосклероз вызывали с помощью гистамина. Животным делали трехразовое интратрахеальное введение солянокислого гистамина. Количество ВГ определяли с использованием палладий-хлорпромазинового комплекса по методике Lee Kum-Tatt в модификации В. Г. Чернышова.

Результаты исследования показали, что бактериальная пневмония, хронический бронхит и пневмосклероз приводят к снижению количества ВГ в эритроцитах. При этом степень снижения количества глутатиона пропорциональна степени тяжести заболевания. Так, при бактериальной пневмонии наблюдается тенденция к снижению уровня ВГ по сравнению с контролем, тогда как при хроническом

бронхите и пневмосклерозе содержание ВГ достоверно снижено, причем при хроническом бронхите оно достоверно ниже контроля на 25,6%, а при пневмосклерозе — на 38,6%.

Таким образом, экспериментальная бронхолегочная патология разного генеза приводит к снижению количества ВГ в крови белых крыс, что может свидетельствовать, по нашему мнению, о напряжении компенсаторных механизмов антиоксидантной системы защиты организма, снижении скорости репаративных процессов.

Работа выполнена за средства госбюджета.

ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ЯК ДІАГНОСТИЧНИЙ КРИТЕРІЙ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ У ЖІНОК В ПЕРІОД ПРЕМЕНОПАУЗИ

ЗАВ'ЯЛОВ В. П., БРОДСЬКА А. Ю.

*Херсонський державний університет, Україна;
e-mail: dromicia@rambler.ru*

Проблема метаболічного синдрому в наш час є дуже актуальною для клініцистів різних спеціальностей. Це зумовлено високою поширеністю та багатокомпонентністю цієї патології. На тлі вікових змін в організмі жінок домінують інволюційні процеси в репродуктивній системі. Цей фізіологічний період отримав назву менопауза. Пременопаузальний період триває від 45 років до настання менопаузи. Збільшення маси тіла в пременопаузі призводить до формування менопаузального метаболічного синдрому. За умов метаболічного синдрому провідну роль відіграє інсулінорезистентність. Абдомінальне ожиріння є відображенням існуючої в організмі генетично зумовленої інсулінорезистентності.

Тому метою дослідження є визначення показників інсулінорезистентності у жінок в період пременопаузи для діагностики метаболічного синдрому.

Інсулінорезистентність — це зниження чутливості інсулінзалежних тканин до дії інсуліну. Цей стан характеризується недостатньою біологічною відповіддю клітин і тканин на інсулін при його достатній концентрації в крові. Оскільки інсулінорезистентність відіграє значну роль у формуванні метаболічного синдрому, то одним із діагностичних критеріїв його оцінки є визначення чутливості тканин до інсуліну. Для цього в клініко-амбулаторних умовах проводять глюкозо-толерантний тест і визначають рівень інсуліну в крові натще. Біохімічні дослідження проводили на базі діагностичної лабораторії «Довіра» за участю 20 жінок у віці 45–46 років. Дана вибірка була сформована на базі Центру планування родини і репродукції людини Херсонської обласної клінічної лікарні. Результати оцінки порушення толерантності до глюкози у пробі з навантаженням є наступними: глюкоза капілярної крові натще становить 6,1 ммоль/л; через дві години рівень глюкози підвищується до 7,8 ммоль/л, а в деяких випадках навіть досягає 11,1 ммоль/л. Відповідно до отриманих даних значення рівня інсуліну в плазмі натще коливається в межах 18–25 мкОд/мл і оцінюється як базальна гіперінсулінемія, що є маркером інсулінорезистентності.

Таким чином, визначення показників інсулінорезистентності у жінок в період пременопаузи дає можливість діагностики метаболічного синдрому та допомагає відібрати адекватні корекційні та реабілітаційні програми для покращення стану жінок на даному етапі життя.

ОСОБЛИВОСТІ СУДИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ АРГІНІНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 2 ТИПУ

*ЗАГАЙКО А. Л., ВОРОНІНА Л. М., КРАСІЛЬНИКОВА О. А.,
КРАВЧЕНКО Г. Б.*

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

У клітинах стінки аорти амінокислота L-аргінін залучена до різних метаболічних процесів. Так, під дією аргінази L-аргінін перетворюється на L-орнітин та сечовину. Також L-аргінін є субстратом для синтази оксиду нітрогену (NO-синтази), яка перетворює його на L-цитрулін та NO. Відомо, що продукти аргіназної реакції пригнічують активність NO-синтази. Проте, механізм активації аргінази ще недостатньо вивчений. Раніше нами було встановлено, що при експериментальному цукровому діабеті 2-го типу (ЦД2) спостерігаються зміни вмісту аргініну та продуктів його метаболізму в сироватці крові щурів порівняно з контрольними показниками, тому метою цього дослідження було вивчення особливостей метаболізму аргініну в клітинах стінки аорти при експериментальному ЦД2.

ЦД2 викликали утриманням тварин на раціоні, збагаченому фруктозою. Аорту виділяли та інкубували у середовищі, яке містило [^{14}C]аргінін. У окремих випадках до середовища інкубації вносили інгібітор тирозинового фосфорилування — ізофлавіон геністеїн. Активність аргінази та NO-синтази визначали за утворенням кінцевих продуктів. [^{14}C]орнітин, [^{14}C]цитрулін та [^{14}C]аргінін розділяли за допомогою тонкошарової хроматографії та визначали радіоактивність у рідкому сцинтиляторі. Кількість NO визначали спектрофотометрично з використанням реактиву Грисса. Рівень сечовини оцінювали за утворенням [^{14}C]кінцевих продуктів у присутності урикази. Отримані дані оброблені статистично.

Встановлено, що у клітинах стінки аорти щурів з експериментальним ЦД2 зростає вміст [^{14}C]орнітину та збільшується утворення сечовини, порівняно з контрольними показниками. За таких умов вміст міченого цитруліну, а також кількість NO зменшується. Введення у середовище інкубації тканини геністеїну зменшує вміст [^{14}C]орнітину та сечовини, водночас кількість [^{14}C]цитруліну та NO зростає, практично до контрольного рівня.

Отримані дані свідчать про те, що при експериментальному ЦД2 у клітинах стінки аорти збільшується активність аргінази та зменшується активність NO-синтази. Зміни у метаболізмі аргініну, що спостерігалися після введення до середовища інкубації геністеїну, дозволяють припустити, що до активації аргінази у клітинах стінки аорти за даних експериментальних умов залучені процеси тирозинового фосфорилування.

РОСЛИННІ ПОЛІФЕНОЛИ – МОДУЛЯТОРИ МЕТАБОЛІЗМУ ПОЛІАМІНІВ В ПУХЛИННИХ КЛІТИНАХ

ЗАЛЄТОК С. П., ОРЛОВСЬКИЙ О. А., САМОЙЛЕНКО О. А.,
КЛЕНОВ О. О., ГОГОЛЬ С. В.

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;
e-mail: sophiazaletok@mail.ru*

Метою роботи було дослідження протипухлинної властивості поліфенолів зеленого чаю (ПФЗЧ), суміші ПФЗЧ і поліфенолів червоного винограду (ПФЗЧВ), вивчення молекулярного механізму їхньої дії, пов'язаного з впливом на метаболізм поліамінів (ПА) та з'ясування можливості підсилення протипухлинної дії інгібіторів біосинтезу ПА при включенні рослинних поліфенолів в лікувальні схеми.

Дослідження проведені на тваринах з перещепленими пухлинами (карцинома Са755, карциносаркома Уокер, карцинома Герена) та клітинній лінії раку молочної залози людини MCF-7.

Встановлено, що рослинні поліфеноли істотно гальмують ріст досліджуваних пухлин. Гальмування росту пухлин під впливом ПФЗЧ супроводжувалось відповідним до величини гальмівного ефекту зниженням експресії ключового ензиму біосинтезу ПА – орнітиндекарбоксилази, активності поліаміноксидази та вмісту ПА в пухлинних клітинах, завдяки чому досліджувані ПФ можуть розглядатися як природні інгібітори/модулятори метаболізму ПА. При дослідженні спільної дії ПФЗЧ та інгібіторів біосинтезу ПА – α -дифторметилорнітину (α -ДФМО) та полігексаметилenguанідину (ПМГ) виявлено, що ПФЗЧ, у разі спільного їхнього введення з ПМГ, значно підсилює протипухлинний ефект останнього у тварин з карциномою Са755 і карциносаркомою Уокер. Введення α -ДФМО спільно з ПФЗЧ призводить до суттєвого підвищення виживаності тварин з перещепленими пухлинами молочної залози. ПФЗЧВ підвищували терапевтичну активність цис-платину щодо карциносаркоми Уокер та карциноми Герена і нівелювали його нефротоксичний ефект.

Таким чином, рослинні поліфеноли (ПФЗЧ і ПФЗЧВ) є природними інгібіторами/модуляторами синтезу і інтерконверсії ПА, що є одною з причин їхнього протипухлинного ефекту. Рослинні поліфеноли підвищують терапевтичну активність і знижують токсичні ефекти синтетичних інгібіторів поліамінів та цис-платину. Все це свідчить про перспективність використання досліджуваних рослинних поліфенолів для профілактики і лікування онкологічних хворих.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТЕЇНІВ mBD-2 І Hsp60 ЯК МОЖЛИВИХ МАРКЕРІВ РАКУ ЛЕГЕНІВ НА МОДЕЛІ КАРЦИНОМИ ЛЬЮЇСА

¹ЗЕЛЕНИЙ С. Б., ²БОБИК В. І., ¹МАНДРИК С. Я.,
²КАПУСТЯН Л. М., ²СИДОРИК Л. Л., ²ВАГІНА І. М.,
²МОРОЗОВА Л. М., ¹ПОГРІБНИЙ П. В.

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

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;
e-mail: now15green@yahoo.com

Використання високоспецифічних тест-систем на основі твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) є одним з центральних профілактичних і діагностичних підходів у моніторингу і лікуванні онкозахворювань різної етіології. З цієї точки зору пошуки протеїнів-маркерів того чи іншого виду раку набувають все більшої актуальності. Тому метою роботи було дослідження можливого використання протеїнів mBD-2 і Hsp60 для моніторингу карциноми легень Льюїса (КЛЛ).

Дослідження проводились на мишах-самцях лінії Black C-57 розводки віварію Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Всі тварини віком 2–2,5 міс., мали масу 18–23 г. Дослідження на тваринах виконано згідно правил, прийнятих Етичним Комітетом ІЕПОР. В роботі використано культуру клітин карциноми легень Льюїса LLC – варіант, одержаний з вихідного штаму карциноми легень Льюїса (КЛЛ). Клітини LLC інокулювали мишам внутрішньом'язево у кількості $1,0 \times 10^6$ клітин в 0,1 мл розчину Хенкса. Титр антитіл проти протеїнів mBD-2 і Hsp60 у сироватці крові мишей визначали на 7-, 14-, 21-, 28-, 35-ий і 40-ий день з моменту інокулювання клітин LLC. Титр автоантитіл проти протеїнів mBD-2 і Hsp60 у сироватці крові мишей на усіх етапах розвитку КЛЛ визначали за допомогою методу твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) з модифікаціями.

Показано, що рівень специфічних автоантитіл в сироватці мишей з КЛЛ знижується, починаючи з 7-го дня розвитку експериментальної моделі. Рівень автоантитіл проти протеїну mBD-2 був достовірно вищим в порівнянні з контрольними значеннями, починаючи з 14-го дня розвитку КЛЛ, що відповідає підтвердженій гістологічним методом появі метастаз в легенях мишей. Рівень автоантитіл проти протеїну Hsp60 порівняно з контрольними значеннями достовірно зростає, починаючи з 35-го дня розвитку КЛЛ. Також слід зазначити, що титр антитіл проти Hsp60 знижується на 21–28-ий день розвитку КЛЛ.

Таким чином, нами продемонстровано, що прогресія КЛЛ супроводжується достовірним підвищенням рівня специфічних автоантитіл проти протеїнів mBD-2 і Hsp60, що корелює в часі з утворенням метастаз і зниженням імунного статусу мишей і, відповідно, може бути використано для подальшого дослідження дефензину і молекулярного шаперону Hsp60 як маркерні протеїни розвитку КЛЛ.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОТНОШЕНИЯ ПРООКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПРИ РАКЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА

*ЗУЙКОВ С. А., ЖЕБЕЛЕНКО Я. Г., ВЯТОХА А. Н.,
БАКУРОВА Е. М., СКОРОБОГАТОВА З. М., БОРЗЕНКО Б. Г.*

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

В растущей ткани опухоли наблюдается нарушение кровотока, приводящее к гипоксии и к ацидозу, способствуя усиленному образованию активных форм кислорода.

В качестве представителя прооксидантной системы мы определяли активность энзима ксантиноксидазы (КО), а показателем антиоксидантной системы, служил энзим супероксиддисмутаза (СОД). Исследования проводились в гомогенатах ткани 16-ти больных раком толстого кишечника, а в качестве контроля были взяты ткани из слизистой, отдаленной от опухоли.

В результате обследования установлено, достоверное повышение активности КО в опухолевой ткани $9,78 \pm 2,84$ мкмоль/мин·мг по сравнению с отдаленной слизистой $2,68 \pm 1,14$ мкмоль/мин·мг ($P < 0,001$). При этом активность СОД в опухолевой ткани достоверно снижалась $21,46 \pm 6,17$ ед/мг относительно контроля $49,67 \pm 6,78$ ед/мг ($P < 0,001$). Показано, что для канцерогенеза в кишечнике характерно подавление антиоксидантной защиты в организме больных на фоне усиления прооксидантной системы, что еще более усугубляется гипоксией ткани.

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ НАНОЛІПОСОМНИХ ФОРМ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА ЗА УМОВ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ

ІВЧУК В. В., ПОЛІШКО Т. М., ШТЕМЕНКО Н. І.

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

Дослідження гепатопротекторних властивостей кластерних сполук ренію різних структурних типів під час гальмування новоутворення у разі введення різних форм пухлиноносіям реній-платинової системи, зокрема у вигляді наноліпосом і твердих наночасток, є актуальним напрямом біохімічних досліджень, що має перспективи впровадження у медичну практику. Метою роботи було дослідити гепатопротекторні властивості кластерних сполук ренію різних структурних типів в моделі канцерогенезу у разі введення різних форм пухлиноносіям реній-платинової системи, зокрема у вигляді наноліпосом і твердих наночасток. Показано, що використання системи реній-платина у вигляді змішаних наноліпосом, навантажених протиопухлинною системою реній-платина призводить до захисту клітин печінки,

що підтверджується зниженням активності діагностичних ензимів в крові: аспаратамінотрансферази у 1,6–6 рази, аланінамінотрансферази у 1,6–5,6 рази, лактатдегідрогенази у 1,5–4,9 рази, γ -глутамілтранспептидази у 1,2–3,6 рази, практично до нормального стану ферментативної активності тканин та морфологічного стану клітин печінки. Захисний ефект кластерних сполук ренію щодо стану гепатоцитів у моделі пухлинного росту залежить від структури сполуки і форми введення системи реній-платина. Знайдено систему цис- $\text{Re}_2(\text{AdCOO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{CH}_3\text{CN}$ – цис-діацетонітрилотетрахлороди- μ -адамантилкарбоксилатодиреній(III) та цис-платин 4 : 1 у формі змішаних наноліпосом розміру 10–100 нм. Введення її супроводжувалося зниженням активності діагностичних ензимів крові та одночасно гальмуванням росту пухлини (99%). Гепатопротекторна роль вищезгаданої кластерної сполуки ренію підтверджена в експерименті гострого токсичного гепатиту, де її попереднє введення у вигляді змішаних наноліпосом знижувало концентрацію малонового діальдегіду у крові і тканині печінки в 3,8 і 2 рази відповідно, нормалізувало активність діагностичних ензимів у тканині печінки і у плазмі крові та зберігало нормальний морфологічний стан клітин печінки. Вперше показано, що використання змішаних наноліпосом, навантажених системою реній-платина супроводжується значним гепатопротекторним ефектом кластерних сполук ренію та дозволяє варіювати співвідношенням компонентів всередині капсули без гострого негативного впливу на біохімічні показники печінки. Отримані результати дозволяють обговорити деякі аспекти механізмів дії гепатопротекторів, які включають наявність кон'югованої системи навколо почверного зв'язку реній-реній та наявність адамантильного радикалу зі суттєвим позитивним індукційним ефектом і висвітлити подальші перспективи використання комплексних сполук ренію у медичній практиці.

СТАН ЕНЗИМНИХ СИСТЕМ ТРАНССУЛЬФУВАННЯ СІРКОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ В НИРКАХ ЗА УМОВ ЦИС-ПЛАТИНОВОЇ НЕФРОПАТІЇ У ЩУРІВ

ЙОЛТУХІВСЬКИЙ М. М., ЗАІЧКО Н. В., ТЕРТИШНА О. В.

Вінницький національний медичний університет

ім. М. І. Пирогова, Україна;

e-mail: yokolya@yahoo.com

Важливою ланкою патогенезу токсичних нефропатій є порушення ниркової гемодинаміки. Негативна дія нефротоксикантів може реалізуватись через порушення продукції вазорегуляторних молекул та зменшення чутливості ниркових судин до них. У останні роки відкрито новий потужний вазодилататор – гідроген сульфід (H_2S), який утворюється в процесі метаболізму гомоцистеїну та цистеїну в реакціях транссульфування. Однак, роль порушень синтезу H_2S в нирках у формуванні ксенобіотик-індукованих нефропатій повністю невідома. Метою роботи було вивчення стану ензимних систем транссульфування в нирках щурів за умов цис-платинового ураження нирок.

Досліди проведені на 30 білих щурах-самцях масою 200–250 г. Модель цис-платинової нефропатії у щурів створювали шляхом одноразового введення цис-

платину (7 мг/кг маси тіла інтраперитонеально). В гомогенатах нирок досліджували активність ензимів транссульфування, в плазмі крові та сечі визначали вміст креатиніну та сечовини.

Через 3 доби після введення цис-платину реєструвалось підвищення вмісту креатиніну та сечовини в 3,5 та 6,0 разів в плазмі крові, зменшення екскреції креатиніну з сечею в 1,4 раза, зниження кліренсу креатиніну — в 3,0 рази.

Формування цис-платинової нефропатії супроводжувалось порушенням процесів транссульфування: активність цистатіонін- β -синтази в реакції конденсації гомоцистеїну з серином зменшилась на 28,4%, активність цистатіонін- γ -ліази в реакції розщеплення цистатіоніну зменшилась на 25,6% ($P < 0,05$). Введення цис-платину достовірно порушувало здатність нирок до продукції H_2S . Зокрема, утворення H_2S в реакції конденсації цистеїну з гомоцистеїном за участі цистатіонін- β -синтази зменшилось на 31,0% (з $2,20 \pm 0,09$ до $1,52 \pm 0,14$ нмоль/хв на 1 мг протеїну, $P < 0,05$), а в реакції розщеплення цистеїну за участі цистатіонін- γ -ліази — на 27,6% (з $1,56 \pm 0,05$ до $1,13 \pm 0,05$ нмоль/хв на 1 мг протеїну, $P < 0,05$). Цілком очевидно, що порушення продукції H_2S в нирках є однією з молекулярних мішеней, через яку реалізується нефротоксична дія цис-платину. Подальші дослідження в цьому напрямку дозволять поглибити розуміння біохімічних механізмів формування токсичних нефропатій та розробити підходи до їхньої корекції модуляторами активності процесів транссульфування.

ВПЛИВ ЗМІН МІНЕРАЛЬНОГО ТА D-ВІТАМІННОГО ОБМІНІВ НА ПЕРЕБІГ ТА ПРОГРЕСУВАННЯ ІДЕОПАТИЧНОГО КОКСАРТРОЗУ

²КАЛАШНІКОВ О. В., ¹АПУХОВСЬКА Л. І., ¹БЕЗУСЯК А. І.,
²КАЛАШНІКОВ А. В.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²ДУ «Інститут травматології та ортопедії АМН України», Київ;
e-mail: navitanyk@lanet.kiev.ua

Відомо, що однією з причин розвитку патології кісткової та хрящової тканин є недостатність забезпечення організму вітаміном D_3 , які відповідають за проліферацію й диференціацію клітин, регулюють синтез протеїнів, ензимів та мінеральний обмін кісткової та хрящової тканин.

Метою роботи було дослідження мінерального, D-вітамінного обміну та стану кісткової та хрящової тканини у хворих на ідеопатичний коксартроз.

Результати проведених рентгеноморфометричних досліджень свідчать, що інтенсивність порушення стану кісткової та хрящової тканин при ідеопатичному коксартрозі залежить від стадії розвитку патології, внаслідок недостатності забезпечення організму вітаміном D. У разі 1-ої стадії захворювання діагностується D-гіповітаміноз (рівень 25 ОНД₃ дорівнює 62,6 нмоль проти 115 нмоль у здорових). Тільки 10% обстежених з цією хворобою мають ознаки остеопенії. У випадку 2-ої стадії діагностується D-вітамінна недостатність (рівень 25 ОНД₃ складає 41,7 нмоль). У цьому разі 60% хворих мали остеопенію і 10% — ознаки остеопорозу.

Найбільш тяжка стадія захворювання має більш глибоке порушення забезпеченості вітаміном D – D-вітамінний дефіцит (рівень 25 ОНD₃ – 22,8 нмоль). У 75% цих хворих відмічається остеопороз, у 25% – остеопенія. Характер змін рівня 25 ОНD₃ у хворих на коксартроз корелює із інтенсивністю порушення мінерального обміну. Прогресування ідеопатичного коксартрозу має пряму зворотню залежність від ступеня забезпеченості організму вітаміном D. У випадку швидкої форми прогресування ідеопатичного коксартрозу відмічено D-вітамінну недостатність (44,5%) та D-вітамінний дефіцит (55,5%). Водночас, у помірній формі – D-вітамінна недостатність (92%) і D-вітамінний дефіцит (18%), тоді як у повільній формі – D-гіповітаміноз (37,5%), D-вітамінна недостатність (50%) і D-вітамінний дефіцит (12,5%). Швидко прогресуючій формі ідеопатичного коксартрозу відповідають достовірно знижені порівняно з повільно прогресуючою формою коксартрозу ($P \leq 0,01$) показники вмісту в сироватці крові кальцію, фосфору, загальної лужної фосфатази та її ізоформ.

Одержані результати свідчать, що причиною розвитку та прогресування ідеопатичного коксартрозу є недостатність забезпечення організму вітаміном D₃, що обґрунтовує доцільність включення препаратів вітаміну D₃ у комплекс лікувальних заходів при цій ортопедичній патології.

L- ТА Н-КАТЕПСИНОПОДІБНА АКТИВНІСТЬ У ПЛАЗМІ КРОВІ ХВОРИХ З ПАПІЛЯРНОЮ КАРЦИНОМОЮ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ

КАЛІНІЧЕНКО О. В., МИШУНІНА Т. М.

*ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», Київ;
e-mail: mishunina@list.ru*

Активізація лізосомального шляху регуляції метаболізму в клітинах є суттєвою для патогенезу онкологічних захворювань, за умов яких може відбуватися порушення експресії, внутрішньоклітинної локалізації, механізмів регуляції активності та секреції ензимів, що локалізуються в лізосомах. Вважають, що дані про зміну активності цистеїнових катепсинів у крові хворих з пухлинами різної локалізації є додатковою біохімічною інформацією, яка може бути важливою для уточнення діагнозу, оцінки ступеня тяжкості та напряму перебігу патологічного процесу, реакції організму на пухлинну інвазію чи відповіді на обрану хіміотерапію, а також для передбачення прогнозу захворювання.

Метою роботи було визначення Н- та L-катепсиноподібної активності у плазмі крові хворих з папілярною карциномою щитовидної залози та аналіз її змін в залежності від особливостей перебігу хвороби. Досліджена плазма крові 69 хворих (вік пацієнтів $42,0 \pm 1,9$ років, 59 жінок та 10 чоловіків) та 12 практично здорових добровольців ($44,8 \pm 3,0$ років, 9 жінок та 3 чоловіків).

Встановлено, що Н-катепсиноподібна активність суттєво вища як в крові хворих з папілярною карциномою різної гістологічної будови, яку не супроводжувала супутня тиреоїдна патологія, так і у хворих, в щитовидній залозі яких поряд із зло-

якісною пухлиною діагностували також хронічний чи хронічний автоімунний тиреоїдит, вузловий колоїдний чи аденоматозний зоб, а також аденому. Зі збільшення розмірів та агресивності пухлини Н-катепсиноподібна активність прогресивно підвищувалась. Так, у хворих з пухлиною категорії T₄ ферментативна активність зростає порівняно з показниками здорових, як при карциномі, що супроводжувалася тиреоїдною патологією (в 3,1 раза), так і при карциномі без неї (в 3,5 раза). Проте, лише в останній групі у хворих з метастазами папілярної карциноми у регіонарні лімфовузли (категорія пухлини N₁) мало місце значне (в 5,3 раза) підвищення ферментативної активності; вона була також вищою при наявності метастазів пухлини у раніше прооперованих пацієнтів.

Підвищення L-катепсиноподібної активності у плазмі крові спостерігали лише у хворих з папілярною карциномою щитовидної залози, яку не супроводжувала інша тиреоїдна патологія. Воно також залежало від категорії T пухлини, проте у разі збільшення категорії пухлини підвищення ферментативної активності було виражено меншою мірою і у крові хворих з карциномою категорії T₄ ферментативна активність не відрізнялася від такої у здорових. L-катепсиноподібна активність також не змінювалась (порівняно з рівнем здорових) у крові хворих з папілярною карциномою змішаної (папілярно-фолікулярної) будови з присутністю солідних ділянок, а також якщо у тканині пухлини патолог відмічав оксифільноклітинну метаплазію або склеротичні та/чи дистрофічні зміни строми. Отже, спостерігався певний зв'язок між інтенсивністю секреції катепсину Н та L у крові хворих з папілярною карциномою щитовидної залози та процесами прогресії росту та метастазування пухлини. Водночас не одержано даних, які б свідчили про асоціацію модуляцій Н- та L-катепсиноподібної активності у крові із процесами інтра- чи екстратиреоїдного розповсюдження пухлини та інвазії пухлинних клітин у лімфатичні чи кровоносні судини.

Неоднозначна картина змін катепсиноподібної активності не дає підстав вважати, що її визначення у плазмі крові пацієнтів з папілярною карциномою щитовидної залози може бути додатковим біохімічним критерієм для диференціальної діагностики, оцінки ступеня тяжкості та інших характеристик захворювання.

ВЛИЯНИЕ КРАУН-ЭФИРА НА ОБМЕН ПРОТЕИНОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

КАРАСЕВА Т. Л., ЦАПЕНКО Ж. Н.

*Физико-химический институт им. А. В. Богатского
НАН Украины, Одесса;
e-mail: tkaraseva1@gmail.com*

Согласно существующим теоретическим концепциям, обмен протеинов головного мозга играет важную роль в обеспечении его функций, в частности и высших интегративных, таких как способность к обучению и памяти. Внутритрунная алкоголизация отражается на состоянии протеинового метаболизма и приводит к нарушению синтеза отдельных групп протеинов в структурах мозга.

Ноотропы нашли широкое применение в клинической практике для коррекции нарушений умственной деятельности, возникающих в результате черепно-мозговых травм, нейроинфекций, нарушений мозгового кровообращения, при остром и хроническом утомлении, стрессе, снижении умственной работоспособности.

В поисках новых препаратов ноотропного действия синтезировано соединение N-замещенный аза-краун-эфир (КЭ), в котором с макроциклом соединена γ -аминомасляная кислота. Наряду с выраженным антиамнестическим, противогипоксическим действием КЭ обладает широким спектром противогипоксических свойств: анксиолитическим, антиагрессивным и противосудорожным действием.

Поскольку, большинство ноотропных препаратов проявляет своё действие при длительном применении, представлялось целесообразным изучить влияние КЭ на обмен протеинов в головном мозге животных в условиях экспериментальной патологии — внутрибрюшинной алкоголизации.

Крысы-самки с 5 по 20-й день беременности получали внутрь раствор этанола, контроль — физиологический раствор. Новорожденным крысятам в течение 25 дней вводили внутрь КЭ (25 мг/кг). У животных в 3-месячном возрасте через 2 месяца после прекращения инъекций, изучали содержание протеинов и интенсивность включения меченых аминокислот в белки разных структур мозга. Скорость синтеза протеинов оценивали радиоизотопным методом с использованием в качестве предшественников ^3H -лейцин и ^{35}S -метионин (1,0 и 0,4 мКи на кг веса, соответственно). Растворы меченых аминокислот вводили за 2,5 ч до декапитации. Радиоактивность протеинов определяли методом жидкостного сцинтилляционного счета на счетчике «Ракбетта» (ЛКБ, Швеция). Показателем скорости синтеза протеинов служила их удельная радиоактивность (расп/мин/мг протеина).

У крыс с пренатальной алкоголизацией включение меченых — ^{35}S -метионина и ^3H -лейцина в протеины отделов головного мозга существенно снижено. В условиях их постнатального развития при введении КЭ (25 мг/кг, 1 раз в день, перорально) на протяжении 25 дней, отмечена коррекция нарушений протеинсинтезирующей системы мозга (увеличение содержания суммарных протеинов и их фракций, активация скорости синтеза протеинов мозга). Указанные особенности имеются и в нейронах неокортекса и гипоталамуса, т.е. в ключевых структурах, участвующих в организации консолидации временных связей. Также установлено, что КЭ действует на метаболизм протеинов мозга даже после прекращения его введения. Такой пролонгированный эффект (2 мес) может указывать на глубокие изменения регуляторных нейрохимических механизмов под влиянием КЭ на ранних этапах постнатального онтогенеза.

Результаты исследований свидетельствуют о важной роли фармакологической коррекции посредством краун-эфира нарушений протеинового метаболизма мозга в патогенезе алкогольной эмбриопатии.

МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ “В” И РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ СПИРУЛИНЫ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ У КРЫС

¹КАРПОВ Л. М., ¹КАРАКИС С. Г., ²АНИСИМОВ В. Ю.

¹Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;

²Одесский государственный медицинский университет, Украина;

e-mail: vladimiranisimov@ukr.net

Достаточно давно одним из авторов данного сообщения [Карпов, 1994] в опытах на крысах было показано, что при аллоксановом диабете в органах и тканях крыс существенно уменьшается содержание суммы макроэргических фосфатов (СМФ). Затем было установлено, что при этом также снижается и активность дегидрогеназ кетокислот, что подтверждено многими исследователями. Это и считалось главной причиной снижения СМФ при диабете. Введение животным витаминов группы В и их комплексов позволяло повышать активность указанных дегидрогеназ и, как нам удалось показать, одновременно возрастало содержание СМФ. Это было особенно отчетливо заметно у животных с диабетом и при сочетании инсулина с витаминами, чем в определенной степени и объясняется потенцирующий эффект последних. Однако в наших исследованиях были получены данные о существовании некоторого неучитываемого ранее фактора, ограничивающего прирост СМФ при введении витаминных комплексов [Анисимов, 2004; Карпов, Анисимов, 2008]. Одновременное определение содержания СМФ, пируватдегидрогеназной активности, и активности Na^+ , K^+ -АТФ-азы в органах крыс после введения возрастающих по составу и дозам витаминов группы В показало, что этим фактором является Na^+ , K^+ -АТФ-аза: ее активация витаминами вначале приводит к прекращению роста содержания СМФ, а затем и к его падению. Также было установлено, что при аллоксановом диабете активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы в органах крыс резко возрастает, а в мозге — даже в несколько раз. В клетках крови наблюдали обратный эффект — снижение на 80%. Предварительные инъекции витаминного комплекса, состав которого нами разработан ранее [Карпов, 1994], существенно сглаживал картину.

Во второй части работы мы попытались использовать в качестве защитных препаратов различные штаммы сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* (дикий штамм, штамм 198В и 27G), полученные в нашей лаборатории физиологически активных веществ (кафедра физиологии человека и животных ОНУ им. И. И. Мечникова). Их действие в виде пищевых добавок как на здоровых животных, так и с аллоксановым диабетом, оказалось во многом сходным с влиянием комплекса витаминов на многие биохимические показатели у крыс, в том числе и на уровень СМФ и активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы. Показано, что оба полученных нами штамма (198В и 27G) существенно эффективнее дикого.

В связи с этим, в дальнейшем планируется изучить сочетание их с витаминами и выяснить, с какими компонентами этих водорослей связано такое их действие. Отметим, однако, что многое о составе полученных нами штаммов мы уже выяснили: они существенно богаче дикого незаменимыми аминокислотами, особенно серосодержащими, каротиноидами, фикоцианином и другими пигментами [Брун, Каракис, Карпов, 2000–2009], обладающими антиоксидантными свойствами. В них присутствует и большое количество витаминов.

**ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ИЗ БИОМАССЫ
Spirulina platensis ШТАММ 198В И УВЧ НА СИСТЕМУ
АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ БЕЛЫХ КРЫС
ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИЕЙ**

КАРПОВ Л. М., КАРАКИС С. Г., ЕРШОВА О. Н., ДРАГОЕВА Е. Г.,
ЛАВРЕНЮК Т. И., САГАРИЦ В. А., ВОЛКОВА А. В.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;
e-mail: lmkarpov@onu.odu.ua

Пищевая добавка (ПД) из биомассы *Spirulina platensis* благодаря содержанию в ней широкого комплекса антиоксидантов находит применение в качестве радиопротектора. Нами селекционно-генетическим путем создан штамм спироулины, характеризующийся, по сравнению с традиционно используемыми природными штаммами, повышенным содержанием фикобилипротеинов, каротиноидов, хлорофилла *a*, серусодержащих аминокислот и фенилаланина — компонентов, способных обезвреживать свободные радикалы. Волны ультравысокой частоты (УВЧ) также снижают повреждающее действие ионизирующей радиации (ИР). Однако, влияние УВЧ на систему антиоксидантной защиты (АОЗ) изучено не в полной мере.

Цель данной работы — изучить действие биомассы штамма 198В, используемой в качестве ПД, в сравнении с действием УВЧ, а также комбинированное действие обоих факторов на систему АОЗ белых крыс при однократном облучении их ИР (гамма-лучи) в дозе 6 Гр. Состояние АОЗ оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА), глутатиона восстановленного, а также по уровням каталазной, глутатионпероксидазной, супероксиддисмутазной, глутатионредуктазной активностей в печени, почках, сердце, мозге, эритроцитах и селезенке. Животные получали ПД в дозе 500 мг сухого веса на кг массы тела за неделю до и две недели после облучения ИР. Воздействию УВЧ мощностью 40 Вт животных подвергали в течение 10 мин через 2 часа после облучения ИР и в последующие 4 дня.

Установлено, что воздействие УВЧ и прием ПД способствуют поддержанию содержания МДА на нормальном уровне в печени, почках, сердце, мозге, эритроцитах и приводят содержание МДА к нормальному уровню в селезенке животных после облучения их ИР при использовании этих факторов как отдельно, так и в комплексе. На основе полученных результатов, нами сделан вывод, что биомасса штамма 198В и УВЧ являются самостоятельными факторами, способными обезвреживать свободные радикалы.

**АКТИВНІСТЬ КОМПОНЕНТІВ КАЛЬПАЇНОВОЇ
СИСТЕМИ НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
(СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО) ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

КАСТРИКІНА Т. Ф., СТЕЛЬМАХ Л. М., МАЛИШЕВА М. К.

*Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ;
e-mail: malysheva@biph.kiev.ua*

Клітинні механізми регуляції кальцієвого гомеостазу зазнають значних змін при різних патологічних станах організму. Це викликає каскад змін клітинних процесів, залежних від кальцію. Одним з головних чинників трансформації кальцієвого сигналу в біохімічну та фізіологічну відповідь клітини є кальпаїн — нейтральна кальційзалежна цистеїнова протеїназа. Це регуляторний ензим, який через обмежений протеоліз своїх субстратів (цитоскелетних та мембранних протеїнів, рецепторів, іонних каналів, багатьох ензимів) приймає участь в таких життєво важливих процесах, як клітинна диференціація, синаптична передача, секреція, навчання, пам'ять та ін. Дослідження пацієнтів, хворих на цукровий діабет, та тварин з діабетичною моделлю показали, що концентрація вільного кальцію підвищена в більшості тканин, включаючи нервову систему. При цьому відбуваються нейропатичні ускладнення в периферійній та центральній нервовій системі. У останні роки з'явилися дані про існування функціонального зв'язку між діабетом T2 та генетичними варіаціями кальпаїну 10, який є структурно аномальним по відношенню до звичайних, загальнопоширених ізоформ мікро- та мілі-кальпаїнів. Не виключається можливість участі інших ізоформ кальпаїну в процесах розвитку діабету, але прямі свідчення про це відсутні. Для з'ясування цього питання проведено дослідження кальпаїнової активності (мікро- та мілі-ізоформ) в головному та спинному мозку контрольних та хворих на діабет щурів. Крім цього досліджено зміни інгібіторної активності кальпаїну — ендогенного високоспецифічного протеїнового інгібітора кальпаїну. Встановлено, що в головному мозку хворих на діабет тварин активність кальпаїну підвищується на 20%, активність кальпаїну знижується на 15%. Це свідчить про підвищення інтенсивності процесу протеолізу. В спинному мозку відбуваються більш виразні зміни кальпаїн-кальпаїнової системи в бік посилення протеолізу: активність кальпаїну зростає на 40%, кальпаїну — знижується на 25–40%. При цьому помітні нейропатичні зміни рухомості. Таким чином, одержані дані свідчать про існування зв'язку між розвитком діабету і функціонуванням мікро- та мілі-ізоформ кальпаїну та ролі кальпаїну в цих процесах.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ОСТЕОАРТРОЗА У ПОДРОСТКОВ

КАШКАЛДА Д. А., ЛЕБЕЦ И. С., ШЕВЧЕНКО Н. С.,
МАТВИЕНКО Е. В., НЕЛИНА И. Н., ЛЕТЯГО А. В.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины», Харьков;
e-mail:iozdp@ukrpost.ua*

Цель работы — изучение особенностей метаболических изменений в соединительной ткани у детей и подростков с остеоартрозом (ОА).

В работе использовали такие методы исследования: суммарные гликозаминогликаны (ГАГ) и их фракции, хондроитинсульфаты (ХС), кислая, щелочная фосфатазы, эластаза, коллагеназа, ингибиторы эластазы, показатели клеточного (Cd^{3+} , Cd^{4+} , Cd^{8+} , Cd^{19+}), гуморального (иммуноглобулины А, М, G, циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), комплемент), моноцитарно-фагоцитарных звеньев иммунитета, провоспалительные цитокины (интерлейкин- 1β (ИЛ- 1β), интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухолей (ФНО- α)).

Под наблюдением находилось 142 подростка 12–18 лет, больных ОА. У 109 ОА развился на фоне гипермобильного синдрома (ГМС), у 33 — после перенесенного реактивного артрита (РеА). В группе контроля были 20 практически здоровых сверстников.

В результате проведенных исследований установлено, что развитие ОА у подростков характеризовалось значительными отклонениями в метаболизме ГАГ и коллагена, которые проявлялись перераспределением фракций ГАГ, (повышением I фракции и снижением II–III), оксипролинурией, увеличением ХС на фоне активации кислой и щелочной фосфатаз. Метаболические изменения в соединительной ткани имели определенные особенности в зависимости от факторов риска развития заболевания: преобладание более выраженной протеогликановой недостаточности и оксипролинурии у больных с фоновым ГМС ($P < 0,01$) и повышения ХС у подростков с РеА в анамнезе ($P < 0,01$). Важную патогенетическую роль играет повышение активности коллагеназы ($P < 0,001$) и снижение ингибиторов энзимов катаболизма протеинов ($P < 0,01$).

В механизмах формирования ОА определенная роль отводится иммунновоспалительному аутоиммунному компоненту. Обнаружены признаки дисбаланса Т- и В-звеньев иммунитета в виде депрессии Т- и активации В-звена со снижением Cd^{3+} , Cd^{4+} , Cd^{8+} , повышением Cd^{19+} , ЦИК, комплемента, иммуноглобулинов А и G на фоне гиперпродукции провоспалительных цитокинов (ИЛ- 1β , ИЛ-6, ФНО- α ; $P < 0,001$).

Таким образом, в результате полученных данных установлены патогенетические механизмы формирования ОА у детей и подростков, с учетом которых будут определены основные направления предупреждения и лечения заболевания или замедления его прогрессирования.

НАРУШЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА И ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ПОТОМКОВ ОТЦОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В ЛИКВИДАЦИИ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ КАТАСТРОФЫ

КАШКАЛДА Д. А., БОРИСКО Г. А., КАЛМЫКОВА Н. В.,
МЕЛЬНИК Е. В., СПИВАК Т. В.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины», Харьков;
e-mail:iozdp@ukrpost.ua*

Цель работы — изучение состояния процессов пероксидного окисления липидов (ПОЛ), антиоксидантной системы (АОС) и липидного обмена у 16–18-летних потомков ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС.

Обследовано 200 подростков 16–18 лет, в том числе 156 (76 девушек и 80 юношей) из семей ЛПА и 44 (16 девушек и 28 юношей) — группа сравнения.

Методы исследования: индуцированное железом ПОЛ, глутатионпероксидаза (ГПО), супероксиддисмутаза (СОД), общий холестерол (ОХС), триглицериды (ТГ), ХС липопротеидов низкой (ХСЛПНП), очень низкой (ХСЛПОНП) и высокой плотности (ХСЛПВП), рассчитывался коэффициент атерогенности (КА) и уровень оксидативного стресса (КОС) (индуцированное ПОЛ/сумма энзимов).

Установлено, что у трети подростков из семей ЛПА обнаружена интенсификация процессов ПОЛ, снижение активности АОС и увеличение КОС, что, очевидно, свидетельствует о формировании у них оксидативного стресса. У юношей в отличие от девушек отмечен регуляторный дисбаланс ключевых антиоксидантных энзимов (угнетение активности СОД и усиление ГПО в среднем на 44,2%, $P < 0,05$). Следует отметить, что у сыновей ЛПА по сравнению со сверстниками без радиационного анамнеза наблюдалось увеличение ТГ (на 42,9%, $P < 0,05$), ХСЛПОНП (на 44%, $P < 0,05$) при снижении ХСЛПВП (на 18,9%, $P < 0,05$), что привело к повышению КА (на 32,3%, $P < 0,05$). Для девушек изменения в липидном спектре не были характерны.

Было изучено взаимоотношение показателей ПОЛ, АОС и липидного обмена у потомков ЛПА. Выявлена прямая корреляционная связь СОД с ОХС ($r = 0,32$; $P < 0,06$) и обратная с ХСЛПВП ($r = -0,43$; $P < 0,01$). Такое соотношение, очевидно, обеспечивает компенсаторное усиление активации энзима в условиях низкого уровня антиатерогенного класса липопротеидов.

Таким образом, в результате полученных данных установлены некоторые патогенетические механизмы, лежащие в основе формирования здоровья подростков из семей ЛПА. Изменения показателей ПОЛ, АОС и липидного спектра крови зависят от пола подростка и позволяют рассматривать сыновей ЛПА как группу повышенного риска относительно формирования атерогенной дислипидотеидемии и развития атеросклероза в молодом возрасте.

ДОСЛІДЖЕННЯ МІНЕРАЛЬНОГО Й ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ДІТЕЙ З НЕЙРОЦИРКУЛЯТОРНОЮ ДИСТОНІЄЮ

*КВАШНІНА Л. В., ІГНАТОВА Т. Б., ОНІСЬКОВА О. В.,
АНТОНЕНКО Л. В., НИКИФОРОВА Т. М.*

*ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України», Київ;
e-mail: dron71@voliacabel.com*

На сьогоднішній день відмічається зростання та «омолодження» захворювань серцево-судинної системи, зокрема різних вегетативних розладів, що розглядаються як інтегральний фактор ризику серцево-судинних захворювань, які включають артеріальну гіпертензію, дисліпопротеїнемію, порушення толерантності до вуглеводів, особливо у дітей із сімей з обтяжливим анамнезом по атеросклерозу та ішемічній хворобі серця.

Метою дослідження було встановлення особливостей ліпідного та мінерального обмінів у дітей з нейроциркуляторною дистонією.

На основі даних анамнезу, клінічного обстеження та результатів кардіоінтервалографії з оцінкою спектрального аналізу ритму серця у 40 дітей молодшого шкільного віку (18 хлопчиків і 22 дівчинки) був виставлений діагноз вегетативної дисфункції, нейроциркуляторний варіант, який характеризується головним болем (95%), запамороченням (42%), гіпергідрозом кінцівок (66%) та іншим.

У обстежених дітей було виявлено зниження вмісту загального кальцію і фосфору в сироватці крові на 20 і 10% відповідно порівняно з контрольними показниками. Активність лужної фосфатази практично залишалась в межах норми.

У дітей із порушеннями мінерального обміну на 14 та 19% зростає рівень загальних ліпідів і холестеролу відповідно. Формування атерогенних порушень може бути обумовлено змінами холестеролу у атерогенних ліпопротеїнах низької (ЛНЩ) та антиатерогенних високої (ЛВЩ) щільності. Встановлено, що у 90% обстежених дітей на 25% зростає рівень холестеролу ЛНЩ, на 16% знижується його вміст у ЛВЩ. Такий характер порушень вмісту холестеролу в ліпопротеїнах призводить до зростання коефіцієнту атерогенності — одного з основних показників стану серцево-судинної системи. Підвищення цього коефіцієнту (на 21%) зафіксовано майже у 85% обстежених дітей, водночас у дівчаток він вищий, ніж у хлопчиків на 12%.

Одержані клініко-біохімічні дані свідчать про те, що у дітей із нейроциркуляторною дистонією вже у ранньому віці формуються ризики розвитку серцево-судинних захворювань, що обґрунтовує доцільність проведення лікувально-профілактичних заходів.

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМЫ Re-Pt НА ПРОТЕИНЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС С КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА

КЛЕНИНА И. А.

*ГУ «Институт гастроэнтерологии АМН Украины», Днепропетровск;
e-mail: inklenina@yandex.ru*

Недавно нами было показано, что применение противоопухолевой системы рений-платина (Re-Pt) в модели экспериментального канцерогенеза сопровождается снижением активности аминотрансфераз и других диагностических энзимов крови, улучшением морфологической картины ткани печени по сравнению с группами животных, которым вводили цис-платин (cisPt), что свидетельствует о гепатопротекторной активности соединений рения.

Целью настоящей работы было изучить влияние системы Re-Pt на протеины сыворотки крови в этой же модели и выяснить степень влияния кластерных соединений рения на протеинсинтезирующую активность печени.

В экспериментальной модели карциномы Герена (Т8) проводили исследования соединений рения с адамантановыми и фосфатными лигандами в составе системы в нанолипосомной форме и в виде твердых наночастиц. Протеины сыворотки крови крыс фракционировали в полиакриламидном геле. Регистрировали и количественно определяли альбуминовую, альфа-1, альфа-2, бета и гамма-глобулиновую фракции.

Развитие опухоли сопровождалось гипопроотеинемией, то есть снижением протеинсинтезирующей активности печени. При этом в процентном отношении наблюдалось достоверное снижение альбуминовой в 2,4 раза, ($P < 0,001$) и повышение гамма-глобулиновой фракций в 2 раза, ($P < 0,01$). После введения cisPt при еще более выраженной гипопроотеинемии наблюдали незначительное повышение процентного содержания альбуминовой и снижения глобулиновых фракций по сравнению с группой Т8. Введение системы приводило к нормализации содержания общего протеина крови, при этом значительно возрастало процентное содержание гамма-глобулиновой фракции сыворотки крови. Установлено повышение отдельных фракций в зависимости от природы лигандов в составе кластерных соединений рения. Впервые показано зависящее от структуры лигандов влияние кластерных соединений рения на протеинсинтезирующую систему печени в модели канцерогенеза.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ ТА АНТИМЕТАСТАТИЧНОЇ ДІЇ ПОХІДНОГО ВІТАМІНУ Е З ВКОРОЧЕНИМ БІЧНИМ ЛАНЦЮГОМ НА МОДЕЛІ КАРЦИНОМИ ЛЕГЕНЬ ЛЬЮЇСА

¹КЛІМЕНКО К. П., ¹ДОНЧЕНКО Г. В., ²ТОДОР І. М.,
¹БУРЛАКА Ю. Б., ¹КУЗЬМЕНКО О. І.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;
e-mail: burlakaiuliia@yahoo.com

Рак легенів є одним з найбільш поширених онкологічних захворювань, що характеризується агресивністю протікання, високою смертністю та складністю діагностування на ранніх стадіях захворювання. Основними методами лікування раку легенів є операція у поєднанні з хіміотерапією. Загальновідомо, що в хіміотерапії пухлинних захворювань застосовують речовини з дуже високою токсичністю. Саме тому, окрім пошуку ефективних протипухлинних препаратів дуже важливо також приділяти увагу зниженню побічних ефектів, що пов'язані з їх застосуванням.

Останні 30–40 років в світі вивчається вплив вітаміну Е та його похідних на новоутворення різного генезу. Дослідження останніх років показали, що вітамін Е окрім антиоксидантної функції, а саме здатності пригнічувати вільнорадикальні процеси, може проявляти також і неантиоксидантну дію — впливати на клітинні процеси через фактори росту, транскрипції та інші сигнальні і регулюючі системи.

Метою даної роботи було дослідити дію похідного вітаміну Е з вкороченим бічним ланцюгом на ріст злоякісної пухлини та процес метастазування на мишах лінії C57BL/6. Експериментальною моделлю була карцинома легень Льюїса — плоскоклітинний рак, що метастазує гематогенним шляхом виключно в легені практично в 100% випадків. Дослідження проводили на мишах-самцях лінії C57BL/6. Піддослідні тварини були розділені на 6 груп. 1 група — контроль, інтактні миші, що не отримували ніяких препаратів. Тваринам з 2 по 6 групу — перещеплювали карциному легень Льюїса. Миші 3 групи отримували внутрішньочеревні ін'єкції цис-платину у дозі 1 мг/кг. Тваринам 4 групи *per os* вводили оливкову олію. Мишам 5 групи вводили *per os* аналог вітаміну Е (5 мг/кг), розчинений у оливковій олії. Тварини 6 групи отримували одночасно аналог вітаміну Е та цис-платину у вищезазначених концентраціях.

В ході наших експериментів, було встановлено, що коротколанцюгове похідне вітаміну Е в дозі 5 мг/кг маси миші, статистично достовірно зменшує діаметр карциноми та кількість метастаз, що з'явилися в легенях піддослідних тварин. За умов комбінованого введення аналогу вітаміну Е та цис-платину у використаних дозах також було показано достовірне зменшення вищезазначених показників у порівнянні з контролем (пухлиною).

Таким чином нами було показано протипухлинну дію та антиметастатичну активність коротколанцюгового похідного вітаміну Е на моделі карциноми легень Льюїса на мишах лінії C57BL/6 у концентрації 5 мг/кг.

ЗНАЧЕННЯ КОРЕКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН ПЕЧІНКИ У КОМПЛЕКСНОМУ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ПЕРИТОНІТ

КЛИМЕНКО Ю. А., КЛИМЕНКО Н. М.

*Національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна;
e-mail: yura-qwerty@rambler.ru*

Одним із найважливіших бар'єрів на шляху генералізації токсемії при гострому перитоніті є печінка, яка забезпечує процеси детоксикації в організмі.

Метою дослідження було встановити об'єктивні показники порушення функціонального стану печінки у хворих на гострий перитоніт шляхом визначення у крові активності органоспецифічних ензимів: аргінази, холінестерази, орнітинкарбоамойлтрансферази, сорбітолдегідрогенази, лактатдегідрогенази, лужної фосфатази як маркерів дестабілізації клітинних мембран, протеїнсинтезуючої, детоксикаційної, сечовиноутворюючої, енергозабезпечуючої та видільної функції печінки. Вивчити ефективність своєчасного застосування на ранніх етапах розвитку ендотоксикозу препаратів гепатопротекторної та антиоксидантної дії (тіотризоліну і біоцеруліну) для корекції виявлених змін у функції гепатоцитів на фоні комплексного хірургічного лікування.

Всі хворі, незалежно від причин захворювання, терміну госпіталізації, обраної індивідуальної хірургічної тактики розділені на дві групи. Контрольна група (43 хворих) отримували традиційне лікування, основна група (44 хворих) отримували лікування із застосуванням вітчизняних препаратів — тіотриазоліну і біоцеруліну за умов загального комплексного хірургічного лікування. Для оцінки ефективності лікування проводили дослідження показників ендогенної інтоксикації: лейкоцитарного індексу інтоксикації, індексу інтоксикації, малонового альдегіду, дієнових кон'югатів та антиоксидантного захисту: активності церулоплазміну, каталази та насиченості залізом трансферину. Встановлено значні зміни функціонального стану гепатоцитів, у хворих з гострим перитонітом, які корелювали з клінічними проявами ендотоксикозу.

У разі застосування даного лікування одночасно з покращенням функціонального стану печінки спостерігалось більш ефективно зниження показників тяжкості стану хворих за шкалою SAPS, покращення моторно-евакуаторної функції кишечника, що супроводжувалось раннім завершенням парезу з $5,4 \pm 0,51$ доби до $3,5 \pm 0,46$ доби, а також скороченням тривалості назоінтестинальної інтубації з $5,3 \pm 0,52$ (у контрольній групі) до $3,8 \pm 0,38$ доби (у основній групі хворих).

Поряд з цим у 88,2% хворих основної групи впродовж перших 5–7 діб спостерігається нормалізація вмісту гемоглобіну, кількості лейкоцитів, лейкоцитарної формули крові, ШОЕ, тоді як у контрольній групі тільки у 42,4% хворих. При печінковій дисфункції, спричиненій гострим перитонітом, рівень білірубіну крові, загального протеїну, протромбіновий індекс, фібриноген крові у процесі застосованого комплексного лікування нормалізується у 90,4% хворих основної групи та тільки у 47,8% хворих контрольної групи.

Показано, що комплексне хірургічне лікування хворих з гострим перитонітом із застосуванням тіотриазоліну та біоцеруліну, дозволяє не тільки покращити

функції печінки, а і знизити ендотоксикоз, водночас попередити розвиток загрозливих для життя хворих ускладнень, а також здешевити та скоротити (на 14,8%) тривалість стаціонарного лікування.

2'-5'-ОЛИГОАДЕНИЛАТ КАК ВОЗМОЖНЫЙ КАРДИОПРОТЕКТОР ПРИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

¹КОЗЛОВ А., ¹БОБЫК В., ²РЯБЕНКО Д., ¹ТИХОНКОВА И.,
³ПОГРЕБНОЙ П., ¹ДУБЕЙ И., ¹СИДОРИК Л.

¹Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев;

²Национальный научный центр "Институт кардиологии
им. акад. М. Д. Стражеско" АМН Украины, Киев;

³Институт экспериментальной патологии, онкологии и
радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины, Киев;
e-mail: a.v.kozlov@imbg.org.ua

Известно, что действие интерферона опосредуется через продукты 2'-5'-олигоаденилат-синтетазы — семейство низкомолекулярных 2'-5'-олигоаденилатов, обладающих противовирусной и антипролиферативной активностью. Целью данной работы было исследование терапевтического воздействия различных доз модифицированного (2'-5') — триаденилата (2'-5'-ОА), содержащего эпоксигруппу на 3'-конце, на развитие экспериментального аутоиммунного поражения миокарда.

В работе использовали разработанную нами уникальную модель миозининдуцированного аутоиммунного поражения миокарда мышей линии BALB/c, подобную дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) человека. Поражение миокарда и степень воздействия различных доз 2'-5'-ОА тестировали по изменению уровня специфических антимиозиновых аутоантител, АТР-азной активности кардиального миозина и по гистоморфологическим изменениям миокарда.

Показано, что внутривенное введение 2'-5'-ОА оказывает дозозависимое благоприятное иммуномодулирующее и кардиопротекторное воздействие, особенно при применении малой дозы препарата (5 мкг/кг массы тела), которое сохраняется в течение 52-х сут. после его введения.

Полученные данные служат теоретической основой для разработки нового поколения кардиопротекторных препаратов с иммуномодулирующим эффектом, эффективных при терапии различных форм сердечной недостаточности.

ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІОНУВАННЯ СЕРОТОНІНЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

КОНОПЕЛЬНЮК В. В., ГАЛЕНОВА Т. І., ЦУДЗЕВИЧ Б. О.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: konopelnjuk@rambler.ru*

Серотонін, відомий також як 5-гідрокситриптамін (5-НТ), нейромедіатор, причетний до регулювання різних фізіологічних процесів. Серотонін зумовлює судинозвужувальну дію в місці розпаду тромбоцитів, що має важливе значення при гемостазі; стимулює скорочення гладеньких м'язів бронхів та шлунково-кишкового тракту; є активатором міометрія вагітних жінок, відіграє важливу роль в діяльності ЦНС як серотонінергічна система, в тому числі в механізмах активації, сну, поведінки, емоцій та є радіопротектором. Цукровий діабет 2 типу (ЦД 2 типу) — хронічне ендокринно-обмінне захворювання, характерними ознаками якого є інсулінорезистентність та зниження синтезу інсуліну бета-клітинами підшлункової залози. Серотонінергічна нейромедіаторна система є однією з активно функціонуючих нейротрансмітерних систем, яка приймає участь в патогенезі ЦД 2 типу. Однією з причин розвитку ЦД 2 типу є порушення метаболізму серотоніну. Тому метою роботи було визначити рівень серотоніну в крові та мозку щурів за умов експериментальної моделі цукрового діабету 2 типу.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах масою 250–300 г. Експериментальний ЦД 2 типу викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням новонародженим щурят стрептозотоцину з розрахунку 80 мг на 1 кг маси тіла (Hemmings, 2000). Розвиток ЦД 2 типу у піддослідних тварин встановлювали через 180 діб на основі рівня глюкози в крові натще ($\geq 7,0$ ммоль/л) та за чутливістю периферичних тканин до інсуліну, яку визначали за допомогою інсулін-глюкозотолерантного тесту (Koichi Itaya, 1977). Визначення вмісту серотоніну в мозку та крові проводили спектрофотофлуориметричним методом (G. Curzon and A. R. Green, 1970), (H. Weissbach, 1957).

Результати досліджень показали, що в групі щурів з експериментальним ЦД 2 типу спостерігається зниження рівня серотоніну в мозку в 1,7 рази ($338,4 \pm 72,3$ нг/г) порівняно зі значеннями контрольної групи ($576 \pm 96,58$ нг/г). Встановлено зниження рівня серотоніну в крові у тварин з експериментальним ЦД в 2 рази ($5,4 \pm 1,2$ нг/г) порівняно з контрольною групою ($11,28 \pm 3,6$ нг/г). Зниження рівня серотоніну, можливо пов'язано із зниженням швидкості синтезу та надмірним перетворенням його в головному мозку.

Отримані дані свідчать про перспективність більш глибокого дослідження процесів, які лежать в основі функціонування серотонінергічної системи за умов ЦД 2 типу для встановлення причинно-наслідкових зв'язків розвитку патологічних станів, пов'язаних з метаболізмом глюкози та серотоніну в організмі.

**ВМІСТ МАЛОНОВОГО ДІАЛЬДЕГІДУ ТА АКТИВНІСТЬ
ОКРЕМИХ АНТИОКСИДАНТНИХ ЕНЗИМІВ
В ЕРИТРОЦИТАХ ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ
СЕРЦЯ І КАРДІОМІОПАТІЮ**

КОНОШЕНКО С. В., ШУШУА ІЛІАС, ЙОЛКІНА Н. М.

*Таврійський національний університет
ім. В. І. Вернадського, Сімферополь, Україна;
e-mail: konoshenko@crimea.edu*

Роботи останніх років свідчать про те, що при деяких захворюваннях, які супроводжуються розвитком окислювального стресу, у патологічний процес залучаються еритроцити. Проте, дотепер залишається нез'ясованим питання про залежність біохімічних змін в еритроцитах від виду патології.

Метою цієї роботи було вивчення окремих показників прооксидантно-антиоксидантного стану еритроцитів при ішемічній хворобі серця (ІХС) та кардіоміопатії (КМП). Матеріалом для досліджень слугували еритроцити 25-ти практично здорових людей та 20-ти хворих на ІХС і 20-ти хворих на КМП віком від 45 до 55 років.

В гемолізатах еритроцитів визначали вміст малонового діальдегіду (МДА), активність каталази і глутатіонредуктази. Встановлено, що вміст МДА в еритроцитах хворих на кардіоміопатію знаходився на рівні показника контрольної групи ($0,120 \pm 0,003$ ум. од. в еритроцитах хворих КМП і $0,127 \pm 0,005$ ум. од. в еритроцитах донорів контрольної групи). В еритроцитах хворих на ішемічну хворобу серця вміст МДА був на 21,3% вище порівняно з контрольною групою ($0,154 \pm 0,006$ ум. од. проти $0,127 \pm 0,005$ ум. од. у контрольній групі).

На відміну від хворих на ішемічну хворобу серця у хворих на кардіоміопатію простежується стабілізація рівня МДА в еритроцитах, що може забезпечуватись підтримкою активності системи антиоксидантного захисту, або використанням первинних продуктів ПОЛ в інших процесах.

Поряд із цим в обох групах хворих спостерігається збільшення активності в еритроцитах каталази і глутатіонредуктази. Активність каталази збільшувалась на 50,8%, тоді як активність глутатіонредуктази підвищувалась в 2,0 рази у хворих на ішемічну хворобу серця і в 1,86 рази — у хворих на кардіоміопатію. Зроблено висновки про можливість розвитку за умов патології компенсаторних процесів, спрямованих на підтримку прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в еритроцитах хворих.

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ НА ТЛІ КОМБІНОВАНОЇ ТРАВМИ

КОРДА М. М., ПІДРУЧНА С. Р., ОСТРІВКА О. І.,
ШЕРШУН Г. Г., КУЗЬМАК І. П.

Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського, Україна;
e-mail: svetic67@mail.ru

Частота комбінованих травм, зокрема механічної і термічної, останніми роками стрімко зростає, тому питання запобігання травматизму, розробка стандартів надання медичної допомоги на догоспітальному етапі мають вагоме медико-соціальне значення. Однією із систем організму, яка зазнає значних патофізіологічних змін при політравмі є система імунітету. Метою нашого дослідження було з'ясувати особливості функціонування стану гуморальної ланки імунітету в патогенезі системних відхилень у випадку тяжкої травми, ускладненої опіком та скальпованою ранною.

В експерименті використано 60 нелінійних білих щурів масою 180–200 г. В першій серії експерименту в асептичних умовах під легким ефірним наркозом моделювали тяжку травму, яка передбачала перелом стегнової кістки, кровотечу із стегнової вени і введення автокрові у паранефральну клітковину з розрахунку 1 мл на 100 г маси тварини. У другій групі, додатково, на депільованій поверхні спини викроювали шкірний клапоть площею близько 10% поверхні шкіри. У 3-ї групи тварин моделювали опік на аналогічній ділянці депільованої спини III А ступеня. В умовах ефірного наркозу до депільованої поверхні спини прикладали мідну пластинку площею 28 см², попередньо занурену в киплячу воду не менше, як на 10 хв. Тварин утримували ізольовано один від одного. Контрольну групу склали інтактні тварини, яких утримували у стандартних умовах віварію. Декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 1-, 3- та 7-у добу експерименту, дотримуючись принципів Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986).

Встановлено, що через 7 днів після моделювання політравми концентрація в плазмі крові імуноглобулінів класу А достовірно (у 1,4 раза) вища порівняно з інтактними тваринами. Але найбільший показник концентрації імуноглобулінів класу А у тварин III дослідної групи, яким на тлі політравми моделювали опік (160, 78% від рівня інтактних тварин). При дослідженні вмісту в плазмі крові Ig G у I дослідній групі виявлено, що на 7 добу після моделювання політравми цей показник підвищується порівняно зі здоровими щурами на 32,2% ($P < 0,05$). У тварин II та III групи експерименту цей показник достовірно зростає у цей термін на 34,9 та 37,3% відповідно. Підвищення при політравмі вмісту у плазмі Ig G, очевидно, є наслідком активації ефекторної ланки імунної системи у відповідь на деструкцію біомембран та макромолекул, зумовлену посиленням викидом в кров екзотоксинів. На користь таких припущень свідчить і зафіксоване нами різке збільшення концентрації циркулюючих імунних комплексів у плазмі крові травмованих тварин. Так, на 7 добу дослідження, вміст циркулюючих імунних комплексів у плазмі крові щурів I серії експерименту становив 462,5%, II – 477%, III – 494,7% від рівня інтактних.

Після моделювання механічної травми на тлі опіку встановлено істотне збільшення Ig A та G та вмісту циркулюючих імунних комплексів з максимумом на 7 добу спостереження. Ступінь зростання досліджуваних показників на тлі опіку суттєво переважає аналогічні після механічної травми.

ВПЛИВ ГЕПАРИНУ НА АДАПТАЦІЮ ОСНОВНИХ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У БІГУНІВ РІЗНОЇ КВАЛІФІКАЦІЇ ЗА УМОВ ГРАНИЧНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ

КОРИТКО З. І.

*Львівський державний університет фізичної культури, Україна;
e-mail: korytko@ukr.net*

Оптимізація функціонування резервів і систем організму за умов граничних фізичних навантажень є можливою у випадку вдосконалення механізмів адаптації регуляторних систем.

Останні дані свідчать, що крім основних регуляторних систем у регуляції функцій організму значну роль відіграє також тромбін-плазмінова система (ТПС), яка реалізується двома функціональними внутрішньосуперечливими фізіологічними процесами — біологічною коагуляцією (цитогістогемкоагуляцією) і біологічною регенерацією (цитогістогемрегенерацією), що функціонують як єдиний коагуляційно-регенераційний механізм (Монастирський В. А., 2007). Разом з тим відомо, що граничні фізичні та емоційні навантаження, які відбуваються на фоні надмірної активації адренергічної системи, ведуть до посилення агрегації тромбоцитів і розвитку гіперкоагуляції, що включає тромбінову підсистему ТПС і може бути причиною порушення гомеостазу та зриву адаптаційних процесів у разі граничних фізичних навантажень.

Звідси, метою наших досліджень стало — з'ясування ролі функціонального стану ТПС у механізмах адаптації основних ферментних систем організму та зміні окремих біохімічних параметрів у разі граничних фізичних навантажень у легкоатлетів-бігунів різної кваліфікації.

До і після безперервного велоергометричного фізичного навантаження (ФН) «до відмови» у 25-ти бігунів різної кваліфікації у першій серії вивчався вихідний рівень біохімічних показників за допомогою апаратно-програмного комплексу «Успіх» Малихіна-Пулавського. У другій серії, для попередження активації підсистеми тромбіну ТПС перед ФН вивчався вплив гепарину, кофактору антитромбіну ІІІ, на толерантність до граничного ФН у цих же легкоатлетів-бігунів. В контрольній групі було 10 бігунів, яким перед ФН вводили плацебо. Результати статистично оброблені за допомогою критеріїв Вілкоксона—Манна—Уїтні з використанням статистичної програми SPSS-11.

Встановлено, що на фоні введення гепарину у легкоатлетів-бігунів порівняно з вихідним рівнем реакції на ФН, а також порівняно з реакцією на ФН спортсменів контрольної групи, спостерігається зміна ферментного стану крові у разі виконання роботи «до відмови»: знижується активність амілази ($P < 0,05$), проявляється

тенденція до нормалізації коефіцієнта Рітиса (AST/ALT) і тенденція у зниженні активності креатинкінази серця та м'язів ($P > 0,05$). ФН з профілактично введеною дозою гепарину супроводжується змінами в енергетичному обміні, які проявляються у зменшенні концентрації лактату і тригліцеридів ($P < 0,05$), змінами в концентрації непротеїнових азотистих компонентів крові, які характеризують протеїновий обмін — креатиніну і сечовини ($P < 0,05$) та інших параметрів.

Отже, проведені дослідження свідчать на користь ролі функціонального стану підсистем ТПС, а особливо підсистеми тромбіну, у механізмах забезпечення гомеостазу у разі граничних фізичних навантажень. Оскільки зміни біохімічних показників при ФН більші у бігунів нижчої кваліфікації, то у цих спортсменів спостерігається особливо виражена протекторна роль гепарину, що свідчило про недосконалість їх механізмів адаптації до граничних фізичних навантажень порівняно зі спортсменами вищої кваліфікації, у яких ці механізми досконаліші.

ОСОБЛИВОСТІ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ КРОВІ ЗА РОЗВИТКУ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ

КОРОЛЬ Л. В., ДУДАР І. О., МИГАЛЬ Л. Я.

*ДУ «Інститут нефрології АМН України», Київ;
e-mail: biochemistry@inephrology.kiev.ua*

У роботі оцінювали оксидантно/антиоксидантний (О/А) баланс крові у 64 пацієнтів з розвитком діабетичної нефропатії (ДН) і у разі порушення у них екскреторної функції нирок (ПФН).

Для характеристики О/А балансу визначали вміст малонового діальдегіду (МДА), церулоплазміну (ЦП), трансферину (Тр), SH-груп в сироватці крові та сумарну пероксидазну активність (СПА) і МДА еритроцитів. Виявлення реноспецифічних лізосомальних N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ), її термостабільного ізоензиму НАГ В та β -галактозидази в сечі підтверджувало ураження каналців нефрону. Пацієнти були включені в дослідження з субкомпенсацією вуглеводного обміну та порівну з цукровим діабетом (ЦД) I та II типу. Контрольна група — 30 практично здорових осіб того ж віку та статі.

У всіх хворих з ДН встановлено порушення О/А балансу крові, що супроводжується підвищенням інтенсивності ліпопероксидації та зниженням антиоксидантного захисту. У хворих на ДН спостерігається підвищення у сироватці крові вмісту МДА в 2 рази ($P < 0,05$) та зниження SH-груп на 20% ($P < 0,05$) проти показників у контрольній групі. Показники вмісту ЦП, Тр та СПА за середніми даними статистично не відрізняються від показників норми. У разі ПФН констатовано зростання МДА в сироватці крові в 3 рази ($P < 0,05$), зниження вмісту SH-груп — на 28% ($P < 0,05$) та зростання Тр в 1,6 раза порівняно з нормою. У ході аналізу показників залежно від типу ЦД, на фоні якого розвинулася ДН, виявлено: показники Тр при ЦД1+ ДН та ЦД2+ДН+ПФН перевищують показники норми в 1,8 та 1,7 раза; вміст ЦП достовірно знижується порівняно з показниками норми лише при ЦД1+ДН та відмічена достовірна різниця між показниками у хворих на

ЦД 1 та 2 при ПФН; вміст SH-груп знижений у всіх групах хворих, проте ці зміни не залежали від типу ЦД; вміст МДА в сироватці крові перевищує показники норми у декілька разів у хворих на ЦД2+ДН, ЦД2 і ЦД1 з ДН+ПФН, а у хворих на ЦД+1ДН— статистично достовірно не відрізняється від показників норми, проте цей показник на 47% нижчий за відповідний у хворих на ЦД1+ДН+ПФН ($P < 0,05$). Паралельно, у обстежених пацієнтів відмічено зростання екскреції НАГ, НАГВ та β -галактозидази (у 3,7–11 рази) порівняно з нормою. Відмічено, що ці зміни більш значні у хворих з ПФН та не залежали від типу ЦД.

Отже, у разі діабетичного ураження нирок порушується О/А баланс, певною мірою, як внаслідок ЦД (його типу), так і, головним чином, від розвитку нефропатії. Прогресування ПФН заглиблює декомпенсацію О/А процесів, що веде до їхньої подальшої активації в клітинних мембранах нирок.

ВИЗНАЧЕННЯ L-АРГІНІН:ГЛІЦИН АМІДИНОТРАНСФЕРАЗИ В ДІАГНОСТИЦІ СТУПЕНЯ УШКОДЖЕННЯ НЕФРОНУ У РАЗІ ПАТОЛОГІЇ НИРОК РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

КОРОЛЬ Л. В.

*ДУ «Інститут нефрології АМН України», Київ;
e-mail: biochemistry@nephrology.kiev.ua*

Пошуку чутливих та інформативних методів ранньої лабораторної діагностики уражень нирок останнім часом приділяється особлива увага. Мета роботи — вивчення змін активності мітохондріально локалізованого ензиму L-аргінін:гліцин-амідинотрансферази (АГАТ, ЕС 2.1.4.1) для діагностики ступеня ушкодження нирок у разі патології різного генезу.

Проведено порівняльне вивчення змін активності АГАТ у крові та сечі при захворюваннях нирок різного генезу: у 98 пацієнтів з гломерулярними ушкодженнями нирок (ГУН), 125 пацієнтів — з інфекційним (ІУН), 56 пацієнтів — з діабетичним (ДУН); за умов збереження функції нирок (ФН) та порушенні екскреторної ФН. В контрольній групі було 30 практично здорових осіб такого ж віку та статі. Активність АГАТ у крові та сечі визначали методом ван Пілсума в модифікації Мардашева та Кареліна.

Результати дослідження показали, що у всіх пацієнтів виявляється активність АГАТ у крові та сечі. За нормальних фізіологічних умов активність АГАТ у сироватці крові та сечі не виявляється, а її поява в цих біологічних рідинах свідчить про ураження тканин нирки. Разом з тим, виявлені особливості її змін залежно від етіології ураження (гломерулярне, запальне чи ендокриннозалежне), активності процесу в нирках (гострий чи хронічний вплив чинника) та ФН (порушена чи збережена). Так, максимальні величини активності АГАТ характерні для ІУН: активність ензиму у крові таких пацієнтів перевищує аналогічні показники у разі ГУН і ДУН відповідно у 1,5 раза та у 3,9 раза ($P < 0,05$). Мінімальні величини активності АГАТ характерні для пацієнтів з ДУН. Також відмічено, що активність ензиму більш висока при гострому перебігу захворювання та поступово знижується при його хронізації. За умов порушення екскреторної ФН у пацієнтів з ГУН та ІУН

знижується активність АГАТ порівняно з показниками при збереженій ФН: при ІУН — в крові на 58% та в сечі на 73% порівняно з показниками при збереженій ФН ($P < 0,05$); при ГУН — на 36% в крові та сечі порівняно зі збереженою ФН ($P < 0,05$); при ДУН навпаки — в крові знижується на 35% порівняно з показниками при збереженій ФН ($P < 0,05$), а в сечі — статистично достовірно не змінюється. Зауважимо, що майже у всіх випадках активність АГАТ в крові була значно вищою за показники у сечі. Отже, за ІУН, ГУН чи ДУН у крові та сечі виявляється активність мітохондріальної АГАТ, що свідчить про активізацію деструктивних процесів в нирках. Визначення у крові та сечі активності АГАТ може бути використано для оцінки ступеня ушкодження і функціонального стану нирок у разі захворювань різного генезу.

ВМІСТ ІНТЕРФЕРОНУ В СУПЕРНАТАНТІ КЛІТИННИХ КУЛЬТУР ТИМОЦИТІВ І СПЛЕНОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ ШЛУНКОВОГО СОКУ

*КОРОТКИЙ О. Г., КОМПАНЕЦЬ І. В., НІКОЛЬСЬКА В. В.,
ПИЛИПЕНКО С. В., ОСТАПЧЕНКО Л. І.*

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

Мета роботи: визначити титр інтерферону в супернатанті клітинних культур тимоцитів і спленоцитів щурів з тривалим пригніченням шлункової секреції соляної кислоти.

Дослідження проведені на білих нелінійних щурах-самцях вагою 180–200 г, які були поділені на 2 групи по 7 тварин в кожній. Гіпоацидний стан (ІІ група) моделювали внутрішньочеревинним введенням «Омезу®» (Dr.Reddy's, Індія) (14 мг/кг), розчиненого у воді для ін'єкцій, один раз на добу упродовж 28 діб. Щури І групи, яким упродовж 28 діб вводили внутрішньоочеревинно 0,2 мл води для ін'єкцій, слугували контролем. Через добу після останнього введення препарату тварин забивали, отримували тимоцити і спленоцити, які потім інкубували 24 год, при 37 °С у повному поживному середовищі. Титр інтерферону визначали в супернатанті клітинних культур за антивірусною активністю мікрометодом, враховуючи цитопатогенну дію вірусу везикулярного стоматиту в перещеплюваній культурі фібробластів щурів.

Показано, що 28-добове пригнічення шлункової секреції соляної кислоти у щурів збільшує титр інтерферону в супернатанті клітинних культур тимоцитів і спленоцитів порівняно з контролем на 156 та 32% відповідно.

Відомо, що тривала гіпоацидність шлункового соку призводить до розвитку дизбактеріозу у травному тракті. Внаслідок цього активується клітинноопосередкована імунна відповідь, яка проявляється у зростанні титру інтерферону в супернатанті клітинних культур тимоцитів і спленоцитів щурів з тривалим пригніченням шлункової секреції соляної кислоти.

ДІЯ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА СИСТЕМУ ОКСИДУ АЗОТУ ЗА ГОСТРОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ МОРФІНОМ У ЩУРІВ

КОСЯКОВА Г. В., ГОРІДЬКО Т. М., СТОГНІЙ Н. А., ГУЛА Н. М.

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

Відомо, що ендоканабіноїдна система організму, до якої належать представники класу малополярних ліпідів — N-ацилетаноламіни (NAE), бере участь у формуванні толерантності та залежності не тільки від канабіноїдів, але й від інших сполук з наркотичною дією, зокрема від опію. В той же час відомо, що система оксиду азоту задіяна в реалізації біологічних ефектів NAE як з ненасиченими, так і з насиченими ацильними ланцюгами. Крім того, система оксиду азоту бере участь у процесах, сполучених із залежністю від опіюїдів.

Метою наших досліджень було вивчення впливу насиченого NAE — N-стеароїлетаноламіну (NSE) на активність конститутивної та індукцибельної NO-синтази в мозку та вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в мозку та крові щурів за гострої інтоксикації морфіном (одноразове внутрішньоочеревинне введення у дозі 30 мг /кг маси тіла).

Показано, що морфін викликає вірогідне зростання відносно інтактних тварин вмісту нітрит-аніону в плазмі крові щурів. Вміст нітрат-аніону при цьому не змінюється. У еритроцитах, навпаки, за дії морфіну зростає вміст нітрат-аніону, а вміст нітрит-аніону залишається на рівні інтактних тварин. У мозку тварин за гострої інтоксикації морфіном вміст NO_2^- зменшується, на тлі незмінної кількості нітратів. Водночас зменшується активність конститутивної NO-синтази, а активність індукцибельної NO-синтази залишається незмінною.

Попереднє введення щурам суспензії NSE в дозі 50 мг/кг протягом 3-х днів до індукції гострого отруєння морфіном викликає ще більше, порівняно із дією морфіну, зростання вмісту нітрит-аніонів у плазмі крові. Вміст нітрат-аніонів при цьому також значно зростає. У еритроцитах NSE запобігає зростанню вмісту нітратів, а в мозку — значному зниженню активності конститутивної NO-синтази і зменшенню вмісту нітритів.

Отже, одержані дані свідчать про здатність NSE за гострої інтоксикації морфіном модулювати вміст стабільних метаболітів оксиду азоту та перешкоджати надмірному зниженню активності конститутивної ізоформи NO-синтази у мозку щурів.

НЕКОТОРЫЕ МОРФО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА НА МОДЕЛИ КАРРАГЕНАН-ИНДУЦИРОВАННОГО ОТЕКА

КРАВЧЕНКО И. А., КОБЕРНИК А. А.

*Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;
e-mail: koberni@mail.ru*

Воспаление как общебиологическая реакция на различные патогенные раздражители является центральной проблемой патологии многих заболеваний: либо лежит в их основе, либо сопутствует большинству острых и хронических заболеваний. Проблема воспаления и борьбы с ним весьма актуальна и имеет ключевое значение при различных заболеваниях, в том числе и связанных с поражением опорно-двигательного аппарата.

Целью данной работы было изучение динамики изменения некоторых биохимических показателей при воспалительном процессе на экспериментальной модели каррагенан-индуцированного отека лапы крыс.

В эксперименте использовали самцов белых беспородных крыс массой 180—220 г. Острую воспалительную реакцию (отек) вызывали субплантарным (под плантарный апоневроз) введением 0,2 мл 0,2% раствора каррагенана. Наблюдение за функциональным состоянием животных проводили в течение 14 дней. Оценку результатов проводили на основании динамики изменения морфологических (путем определения степени выраженности отека, — измерение ширины и объема воспаленной конечности) и биохимических (количество лейкоцитов и определение содержания в сыворотке крови АлАТ, АсАТ, серомукоидов) показателей воспалительного процесса.

Своего максимума выраженность отека по морфологическим критериям достигала ко 2-му дню эксперимента. Показатели ширины и объема воспаленной конечности превышали аналогичные показатели для интактной в среднем на 60%. После чего отек начинал постепенно (с прямолинейной зависимостью во времени) уменьшаться и, к десятому дню эксперимента, разница между воспаленной и интактной конечностями составляла лишь 10%, а к концу эксперимента эти показатели достоверно не отличались от контрольных значений.

В первые 4-е дня эксперимента у крыс отмечено значительное снижение количества лейкоцитов (в среднем по группе оно составляло $27 \pm 4\%$), на 6-й день оно резко повышалось, превышая исходный уровень в 1,5 раза, после чего медленно шло на спад и к концу эксперимента количество лейкоцитов находилось в пределах нормы.

Нами также изучена динамика изменения уровня АлАТ, АсАТ и серомукоидов в условиях каррагенин-индуцированного отека. Отмечено незначительное повышение количества АлАТ и АсАТ в сыворотке крови крыс на 2-ой день эксперимента, после чего до 8-го опытного дня наблюдалось их стремительное снижение (в 1,5 раза), а в последующие дни их уровень стремился к исходным значениям. Напротив, количество серомукоидов, достигало своего пика на 2-ой день (в 4 раза выше исходного) и превышало исходные значения до 10-го дня эксперимента. Исходя из результатов тестов, можно прийти к выводу, что максимально наглядная динамика

ка изменения биохимических показателей, в условиях данной модели воспаления, приходится на первые 10 дней эксперимента.

Полученные данные могут быть в дальнейшем использованы в качестве сравнительных биохимических показателей при использовании данной модели воспалительной реакции у крыс.

ВОЗМОЖНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 12 ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

КУБЫШКИН А. В., ФОМОЧКИНА И. И.

*Крымский государственный медицинский университет
им. С. И. Георгиевского МЗО Украины, Симферополь;
e-mail: scipro@csmu.strace.net*

Семейство матриксных металлопротеиназ (ММПs) представляет собой группу цинк- и кальций-зависимых эндопептидаз, в которую входит до 20 энзимов, способных расщеплять почти все компоненты внеклеточного матрикса соединительной ткани. По специфичности среди ММПs выделяют коллагеназы (ММП-1, -8 и -13), желатиназы (ММП-2 и -9) и стромелизины (ММП-3 и -10). Одна протеиназа относится к эластазам (ММП-12) и является макрофагальным энзимом. Предлагаемые методы определения, основанные на иммуноферментном анализе, позволяют выявить количественное содержание протеиназ или ингибиторов, но не отражают уровень их активности. В связи с этим была поставлена задача разработать подход к определению активности ММП-12 с использованием синтетических субстратов для изучения ее роли в физиологических и патологических процессах.

Эластазоподобную активность (ЭПА) измеряли по гидролизу синтетического субстрата N-т-бок-аланил-п-нитрофинилового эфира (BANPE).

Для решения задачи был использован пул секретов с высокой эластолитической активностью. В качестве ингибитора сериновых протеиназ использовался 0,01 М диизопропилфторфосфат (ДПФФ), ингибитором металлопротеиназы служил 0,1 М раствор ЭДТА. Оптимальные условия определения достигались при смешивании 1 мл пула секрета, 0,3 мл ингибитора и 1,6 мл фосфатного буфера (рН 6,5). Конечная концентрация ингибитора составляла 1 мМ для ДПФФ и 10 мМ для ЭДТА. После преинкубации проб определяли остаточную эластолитическую активность и вычисляли процент ингибирования энзима. Установлено, что ДПФФ ингибирует 80% эластолитической активности, а ЭДТА ингибирует 20% ЭПА.

Можно прийти к заключению, что определение эластолитической активности с использованием синтетических субстратов при добавлении в реакционную среду специфических ингибиторов позволяет определить активность сериновых и металлопротеиназ. Кроме того, определение эластазоподобной активности в присутствии ингибитора сериновых протеиназ диизопропилфторфосфата в конечной концентрации 1 мМ позволяет оценить активность ММП-12.

**EFFECT OF COMPLEX OF PRECURSORS
AND MODULATOR OF COENZYME Q BIOSYNTHESIS
ON BIOENERGETICS AND PRO- TO ANTIOXIDANT BALANCE
UNDER ADRIAMYCIN-INDUCED CARDIOMYOPATHY**

¹*KUCHMENKO O. B., ¹PETUKHOV D. M., ²BURLAKA A. P.,
¹DONCHENKO G. V.*

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

²*Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: kuchmeb@yahoo.com*

Adriamycin is a potent anticarcinogenic drug that is widely used in practical oncology. Unfortunately, application of adriamycin leads to significant cardiotoxicity and toxicity to other tissues. This may cause adriamycin-induced cardiomyopathy. In recent studies coenzyme Q (CoQ) administration was demonstrated to be an effective countermeasure that reduces adriamycin-induced cardiomyopathy effects and does not interfere with the drug's anticancer efficacy. However, it was also shown that direct administration may lead to inhibition of endogenous synthesis of CoQ. The aim of the present work is to study the effect of complex of precursors and modulator of CoQ biosynthesis (α -tocopherol acetate, 4-hydroxybenzoic acid, methionine) on bioenergetics and pro- to antioxidant balance in the heart and liver during adriamycin-induced cardiomyopathy.

Adriamycin-induced cardiomyopathy was modeled by intraperitoneal infusion of adriamycin daily for 8 days in a dose of 2.2 mg/kg of body weight. Under adriamycin-induced cardiomyopathy heart weight and body weight decreased, as well as heart weight to body weight ratio. These changes demonstrate correct reproduction of the model, and were not significantly corrected in experimental groups for the duration of the experiment.

We show that under adriamycin-induced cardiomyopathy CoQ content decreases in liver homogenates and increases in mitochondria of the heart and liver. Complex administration leads to an increase in CoQ content to control level. NADH- CoQ-oxidoreductase (NQR) activity and coenzyme Q deficiency for NQR in the liver mitochondria do not change significantly under adriamycin-induced cardiomyopathy as well as complex correction. NQR-activity in heart mitochondria under adriamycin-induced cardiomyopathy does not change significantly, although CoQ deficiency for NQR increases under adriamycin-induced cardiomyopathy and decreases under complex correction to levels even lower than control level. Succinate- CoQ-oxidoreductase (SQR) activity decreases significantly and CoQ-deficiently increases significantly in liver and heart mitochondria under adriamycin-induced cardiomyopathy. Complex administration normalizes SQR-activity in liver mitochondria. SQR-activity in heart mitochondria under complex administration increases nearly twofold in comparison to control. Cytochrome c oxidase (CytO) activity in heart and liver mitochondria decreases under adriamycin-induced cardiomyopathy. Complex administration leads to normalization of CytO-activity in liver but not in heart mitochondria.

Complex administration leads to normalization of NO content, superoxide-anion radicals generation, free radical lipid (conjugated dienes, TBA-reactive products) and protein

peroxidation and activity of antioxidant enzyme systems (catalase, superoxidedismutase) under adriamycin-induced cardiomyopathy.

These data provide ground for application of such complexes in cancer chemotherapy to reducing the incidence of the toxicity of adriamycin.

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ КРЫСАМ С ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ В УСЛОВИЯХ ИНГИБИРОВАНИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ ГЕПАТОЦИТОВ

*ЛЕБЕДИНСКИЙ А. С., ГРИЦАЙ Д. В., ОЧЕНАШКО О. В.,
СУКАЧ А. Н., ПЕТРЕНКО А. Ю.*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;
e-mail: alebedinsky@mail.ru*

Модель поражения печени, индуцируемая введением ингибитора пролиферации гепатоцитов 2-ацетиламинофлуорена (ААФ) и последующей частичной гепатэктомией (ЧГЭ), создает идеальные условия для раскрытия потенциала клеток фетальной печени (КФП) в условиях, когда восстановление печени реципиента за счет пролиферации собственных гепатоцитов заблокировано. Целью исследования явилось изучение эффектов трансплантации аллогенных клеток фетальной печени (КФП) животным с данной моделью поражения печени по динамике изменения биохимических маркеров повреждения печени.

Модель формировалась путем интрагастрального введения ААФ (30 мг ААФ/кг массы тела) на протяжении 5 суток, после чего проводилась ЧГЭ. Было сформировано 3 группы животных: 1) одновозрастной интакт; 2) контроль: животные с моделью ААФ/ЧГЭ, которым в селезенку вводили среду замораживания; 3) экспериментальная группа: животные с моделью ААФ/ЧГЭ, которым одновременно с проведением ЧГЭ трансплантировали в селезенку по 10 млн КФП. Срок наблюдения за животными составил 21 сутки. В этот период в сыворотке крови измеряли: содержание альбумина и общего билирубина, а также активность маркерных энзимов повреждения печени: аланин- (АЛТ) и аспартатаминотрансфераз (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

Наблюдение за животными с моделью ААФ/ЧГЭ в течение 21 сут. после ложной операции показало, что при развитии ПН выживаемость животных составила 48%, при этом отмечалось резкое изменение биохимического профиля сыворотки. Введение КФП приводило к повышению выживаемости до 60% и постепенному восстановлению показателей крови с достоверным отличием от контроля на 7 и 21 сут. Проведенные исследования позволили выявить позитивное действие трансплантации КФП, которое носило двухфазный характер: в пределах первой недели после трансплантации и в более отдаленные сроки.

Работа выполнена при поддержке гранта Украинского научно-технического центра (проект № 4419).

ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИФЕНОЛОВ

¹ЛЕВИЦКИЙ А. П., ¹МАКАРЕНКО О. А., ¹СЕЛИВАНСКАЯ И. А.,
²ЦИСЕЛЬСКИЙ Ю. В., ¹ДЕМЬЯНЕНКО С. А., ²ЛЕВЧЕНКО Е. М.

¹ГУ «Институт стоматологии АМН Украины», Одесса;

²Одесская областная клиническая больница, Украина;

e-mail: igal64@gmail.com

Пребиотики — это вещества, способствующие росту пробиотических бактерий, взаимодействующих с макроорганизмом на принципах мутуализма. Обычно к пребиотикам относят олигосахариды, не расщепляемые пищеварительными ферментами макроорганизма, однако легко утилизируемые бактериями, в первую очередь, пробиотическими.

Как показали наши исследования, способностью стимулировать рост пробиотических бактерий обладают и соединения полифенольной природы, причем, в отличие от олигосахаридов, они служат не субстратом для пробиотических бактерий, а активатором неспецифической антимикробной системы (НСАС), действие которой направлено на подавление роста условно-патогенной микрофлоры. В качестве показателя состояния НСАС использовали активность лизоцима, а уровня микробной обсемененности — активность уреазы.

Исследования на белых крысах, у которых воспроизводили дисбиоз кишечника с помощью антибиотика линкомицина, показали, что введение с пищей ряда полифенолов (кверцетина, хлорогеновой кислоты) либо водно-спиртовых экстрактов некоторых растений (проростки пшеницы, кожура плодов цитрусовых, корни цикория, виноградные выжимки и др.) повышают сниженную при дисбиозе активность лизоцима, снижают активность уреазы и степень дисбиоза в слизистой оболочке тонкого кишечника.

Полифенолы, кроме того, оказывают и прямое бактериостатическое действие на ряд условно-патогенных бактерий, а также снижают интенсивность транслокаций микробов за счет снижения проницаемости гистогематических барьеров.

В механизме антидисбиотического действия полифенолов лежит также их антиоксидантное действие, способность стабилизировать клеточные мембраны, ингибировать ряд провоспалительных ферментов (ксантиноксидазу, фосфолипазу А₂, протеазы, протеинкиназу С).

Клинические исследования подтвердили высокую лечебно-профилактическую эффективность препаратов полифенолов при дисбиотических состояниях организма, не уступающие по силе классическому пребиотику инулину.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ДИСБИОЗА В СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧКАХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА

ЛЕВИЦКИЙ А. П., МАКАРЕНКО О. А., СЕЛИВАНСКАЯ И. А.,
РОССАХАНОВА Л. Н., КНАВА О. Э., ЦИСЕЛЬСКИЙ Ю. В.,
ГУЛАВСКИЙ В. Т.

*ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса;
e-mail: iga164@gmail.com*

В физиологических условиях слизистая оболочка пищеварительного тракта человека и животных покрыта тонкой биопленкой, содержащей огромное количество пробиотических микробов (бифидобактерии, лактобациллы, стрептококки и др.). Их количество и видовой состав претерпевают значительные изменения в результате действия алиментарных факторов, условий среды, применения лекарственных средств и даже при изменении психо-эмоционального состояния.

В то же время, нарушения в системе мукозального биоценоза (дисбиоз) могут существенно повлиять на функциональную активность не только пищеварительной системы, но и всего организма.

Поэтому определение степени дисбиоза представляется чрезвычайно важным способом контроля патологических процессов и эффективности методов их устранения.

В основу предложенного биохимического метода определения степени дисбиоза слизистой оболочки положено определение активности уреазы (КФ 3.5.1.5) и лизоцима (КФ 3.2.1.17). Первый фермент не вырабатывается соматическими клетками, однако синтезируется и секретируется многими бактериями. Второй фермент является индикатором неспецифического иммунитета. Наиболее точно степень дисбиоза отражает соотношение относительных активностей этих ферментов, получаемых от сравнения опытных показателей с контрольными (у здоровых людей или животных).

В норме биохимический показатель степени дисбиоза равен $1,0 \pm 0,1$. Увеличение этого показателя до 3,0 свидетельствует о I степени дисбиоза, от 3,0 до 6,0 – о II степени, свыше 6,0 – о III степени.

В отличие от громоздкого, длительного и крайне неточного метода посева при определении дисбиоза предложенный биохимический метод прост, быстр и достаточно точен, что делает его незаменимым при массовых исследованиях.

МІЖНУКЛЕОСОМНА ФРАГМЕНТАЦІЯ ДНК У ТКАНІНІ ТА ПУХЛИНАХ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЛЮДИНИ

ЛЕВЧУК Н. І.

*ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», Київ;
e-mail: natalylev@meta.ua*

Порушення механізмів регуляції апоптозу є складовою патогенезу багатьох захворювань, у тому числі онкологічних. В літературі, проте, відсутні дані щодо стану апоптозних процесів у пухлинах надниркових залоз. Тому метою роботи було дослідити інтенсивність термінальної стадії апоптозу — міжнуклеосомної фрагментації ДНК у тканині пухлин надниркових залоз.

Досліджено 47 зразків позапухлинної тканини надниркових залоз, тканини новоутворень, а також гіперплазованої тканини кори надниркових залоз, які були одержані у разі оперативного втручання від хворих з синдромом чи хворобою Іценка-Кушинга. Зрізи тканин інкубували при 37 °С впродовж 3 год. З тканини виділяли ДНК і фрагментацію її аналізували в агарозному гелі. Після електрофорезу гелі фотографували цифровою фотокамерою в трансільюмінаторі, за допомогою програми «Gel Pro Analyzer» фото сканували і розраховували відносний вміст олігонуклеосом.

Встановлено, що у тканині гормонально неактивних пухлин кори надниркових залоз інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК суттєво не відрізнялася від такої у позапухлинній тканині; відмічено лише зниження вмісту моонуклеосом. В той же час, у позапухлинній тканині кори надниркових залоз хворих з гормонально активними пухлинами мало місце підвищення інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК: збільшений вміст три- і тетраолігонуклеосом, а також загальний вміст олігонуклеосом розміром 200–800 п.о. У досліджених тканинах гормонально активних пухлин кори надниркових залоз (альдостерома, андростерома, кортикостерома), рівень міжнуклеосомної фрагментації ДНК відповідав такому у позапухлинній тканині кори надниркових залоз хворих з гормонально активними пухлинами та був вищим за такий у позапухлинній тканині хворих з гормонально неактивними пухлинами чи у тканині власне гормонально неактивних пухлин. Вірогідні зміни вмісту три- та тетраолігонуклеосом відмічено для альдостером і кортикостером.

Інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК у тканині феохромоцитом знаходилася на такому рівні, який є характерним для тканини гормонально активних пухлин кори надниркових залоз. Спостерігали також тенденцію до підвищення сумарного вмісту олігонуклеосом у гіперплазованій тканині кори надниркових залоз хворих з хворобою Іценка-Кушинга у порівнянні з позапухлинною тканиною кори надниркових залоз хворих з гормонально неактивними пухлинами. Вірогідно значуще збільшення встановлено також для вмісту три- та тетраолігонуклеосом.

Таким чином, одержані дані свідчать, що гормони, які секретуються пухлинами кори та мозкового шару надниркових залоз, можуть модулювати апоптозні процеси у позапухлинній тканині, що підтверджується активацією термінальної

стадії програмованої загибелі клітин. Подібне відбувається і в тканині власне гормонально активних пухлин надниркових залоз та в гіперплазованій тканині кори надниркових залоз хворих із хворобою Іценка-Кушинга.

О ВОЗМОЖНОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ ОТДЕЛЬНЫХ ЗВЕНЬЕВ ПАТОГЕНЕЗА ПРИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНА ЗРЕНИЯ

*ЛЕУС Н. Ф., КОЛОМИЙЧУК С. Г., МЕТЕЛИЦЫНА И. П.,
ОЛЕЙНИК Т. В., ЧЕРЕПЕНКО А. А., БАЙДАН Е. И.*

*ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии
им. В. П. Филатова АМН Украины», Одесса;
e-mail: filatova_biochem@mail.ru*

Цель нашего исследования состояла в обосновании необходимости метаболической коррекции нарушений отдельных звеньев патогенеза при дегенеративных заболеваниях органа зрения.

Экспериментальные исследования проводили на кроликах — 180 животных (световая модель катаракты и макулодистрофии) и крысах — 210 животных (стрептозотоциновая модель диабета).

Применение препаратов, содержащих витамины и микроэлементы (метовит, флавионат, витамин Е и его производные) способствовали нормализации окислительно-восстановительных процессов, редокс-состояния свободных никотинамидных коэнзимов и аскорбата, восстановительного потенциала фосфорилированных никотинамидных коэнзимов и глутатиона в тканях глаза кроликов при световом воздействии. Использование препаратов системной энзимотерапии, включающих протеолитические ферменты, способствовали коррекции дисбаланса в протеазно-ингибиторной системе в сетчатке животных при световом воздействии. При развитии стрептозотоцинового диабета комплекс коэнзимов (тиаминпирофосфат, никотинамидмононуклеотид, флавинаденин-мононуклеотид), препараты витамина В₁ оказывали защитное действие на мембранные структуры пигментного эпителия сетчатки, уменьшали концентрацию продуктов перексидного окисления липидов и токсических оксоальдегидов, окси- и кетокислот, повышали восстановительный потенциал глутатионовой системы в сетчатке животных, при этом эффект бенфотиамина был наиболее выражен.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования метаболической коррекции нарушений обменных процессов в комплексе медикаментозной терапии дегенеративных заболеваний органа зрения.

РОЗРОБКА НОВИХ ПІДХОДІВ ДО ОПТИМІЗАЦІЇ ХІМІОТЕРАПІЇ

ЛУКАШ Л. Л.

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ;
e-mail: lukash@imbg.org.ua*

Серед алкілтрансфераз, що відповідають за прояв стійкості клітин до хіміотерапевтичних агентів, здатних спричиняти сайтспецифічні пошкодження в позиції О⁶-гуаніну вирізняється унікальний репаративний ензим О⁶-метилгуанін-ДНК-метилтрансфераза (MGMT). Ефективність хіміотерапії онкозахворень за допомогою алкілувальних сполук залежить від активності та рівня експресії MGMT у пухлинних та нормальних клітинах, так як існує зворотня кореляція між цими показниками і чутливістю клітин до дії цих агентів.

Відомо, що ген *MGMT* людини локалізується на теломерній ділянці довгого плеча хромосоми 10, має дуже великі розміри до 170 000 п.н. і має 5 екзонів та 2 великих інтрони. Він кодує протеїн MGMT з Мм 22 кДа, що містить консервативний цистеїновий акцепторний сайт, що може стехіометрично зв'язуватись тільки з однією алкільною групою. Ферментативна реакція протікає дуже швидко протягом 1 с при 37 °С, в результаті акції переносу одна молекула протеїну інактивується через утворення S-алкілцистеїну. За допомогою секвенування нами проаналізовано мутації, індуковані нітрозогуанідином за умов активної та пригніченої О⁶-бензилгуаніном репарації. Показано, що домінуючим типом мутацій є заміна гуаніну на аденін, і GC-багаті ділянки ДНК репаруються більш ефективно.

Існує різниця в активності MGMT між тканинами одного організму та між зразками однієї тканини різних індивідумів. Експресія MGMT значно вища в печінці, прямій кишці, легенях, ніж у мозку та мієлоїдних тканинах людини. Майже всі типи людських пухлин експресують MGMT, і рівень експресії в пухлинах більш різниться, ніж у нормальних тканинах. Найвищий рівень активності виявлено у пухлинах прямої кишки, меланомах, гліомах, панкреатичній карциномі. На матеріалі хірургічних операцій показано, що, як правило, активність MGMT у пухлинах вище, ніж в оточуючих умовно нормальних тканинах, тобто перші більш стійкі до дії алкілувальних сполук.

Таким чином, прогнозується ефективна хіміотерапія онкозахворювань алкілувальними агентами за умов низького рівня активності MGMT у пухлині (у цих випадках можна застосовувати менш токсичні дози препаратів) і навпаки — низька ефективність хіміотерапії для пухлин з високим рівнем активності. Для оптимізації хіміотерапії у схему лікування вводяться інгібітори, наприклад, О⁶-бензилгуанін, який вже пройшов клінічні випробування. Після проведення хіміотерапії активність репарації у нормальних тканинах може бути поновлена за допомогою деяких цитокінів або лектинів лікарських рослин, які, за нашими даними, індукують експресію MGMT у клітинах.

ВПЛИВ АГМАТИНУ НА ОКРЕМІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

*ЛЮТА М. Я., БУРДА В. А., ФЕДОРОВИЧ А. М.,
КЛИМИШИН Н. І., СИБІРНА Н. О.*

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: lyuta.maryana@mail.ua*

Агматин (α -амінобутилгуанідин) – ендогенна біологічно активна речовина, що синтезується з амінокислоти L-аргініну за допомогою ензиму аргініндекарбоксилази (АДК). Агматин та АДК були ідентифіковані у організмі людини, зокрема, у мозку, печінці, нирках, сечі, сироватці крові. Нещодавні дослідження показали, що агматин може бути нейромедіатором, зв'язуватися з імідазоліновими та α_2 -адренорецепторами. Крім того, він є інгібітором NO-синтази та індукує вивільнення деяких пептидних гормонів, зокрема інсуліну. Метою наших досліджень було з'ясувати вплив агматину на деякі показники крові щурів з експериментальним цукровим діабетом.

Досліди проводились на безпородних щурах-самцях масою 120–150 г ($n = 24$). За експериментального цукрового діабету, індукованого стрептозотоцином (70 мг/кг) встановлено підвищення рівня глюкози в крові майже у 2 рази, вмісту глікозильованого гемоглобіну в еритроцитах та активності NO-синтази в гемолізатах крові щурів у порівнянні з контролем.

Введення агматину в дозі 20 мг/кг маси тіла внутрішньом'язово щурам із стрептозотоциновим діабетом протягом 14 діб призводило до нормалізації вмісту глюкози у крові та незначного зниження рівня глікозильованого гемоглобіну. NO-синтазна активність у гемолізатах крові за цих умов достовірно зменшувалась за рахунок інгібування цього ензиму. Відмічено значний приріст маси піддослідних тварин у разі введення агматину як у нормі, так і при стрептозотоциновому діабеті.

Таким чином, застосування агматину, одного з інгібіторів NO-синтаз є перспективним у створенні фармакологічних препаратів для комплексної терапії, які допоможуть запобігти розвитку діабетичних ускладнень.

ПРОТЕОЛІТИЧНО АКТИВНІ IgG-АНТИТІЛА У ДІАГНОСТИЦІ ПЕРЕБІГУ СИСТЕМНОГО ЧЕРВОНОГО ВОВЧАКА

¹МАГОРІВСЬКА І. Б., ¹КІТ Ю. Я., ¹БІЛИЙ Р. О.,
¹СТОЙКА Р. С., ²КОРНІЙ Н. С., ³ТОЛСТЯК Я. Ф.,
³ЧОП'ЯК В. В.

¹Інститут біології клітини НАН України, Львів;
²Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
³Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: yuyakit@yhoo.com;

Наявність в сироватці крові хворих на системний червоний вовчак (СЧВ) авто-антитіл (авто-АТ) є важливим діагностичним показником. Антинуклеарні авто-АТ слугують молекулярними маркерами як прогнозу важкості перебігу цього захворювання, так і ефективності його лікування. Нами було встановлено, що в сироватці крові хворих на СЧВ присутні анти-гістон Н1 IgG-антитіла, які здатні руйнувати гістон Н1 та основний протеїн мієліну (ОБМ). Ми припустили, що авто-АТ із протеолітичною активністю становлять інтерес для ранньої діагностики СЧВ, моніторингу перебігу цієї хвороби, ризику розвитку ускладнень та ефективності лікування.

Метою роботи було встановити зв'язок між протеолітичною активністю IgG-антитіл сироватки крові щодо гідролізу гістону Н1 та ОБМ та особливостями перебігу захворювання у пацієнтів, хворих на СЧВ.

Було обстежено 38 хворих на СЧВ віком 13–71 роки, з яких 34 (89,5%) жінки. Діагноз СЧВ був підтверджений клінічними та лабораторними даними відповідно до критеріїв ACR (1997). Контрольну групу склали 15 клінічно здорових донорів, віком 20–26 років. IgG виділяли із сироватки крові хроматографією на протеїн G-сефарозі. Субстратами протеолітичної реакції слугували комерційні препарати ОБМ та гістону Н1. Протеолітичну активність антитіл визначали методом електрофорезу в 12% ПААГ у присутності 0,1% SDS.

Аналіз протеолітичної активності виявив, що препарати IgG, очищені із сироватки крові 15 здорових донорів не здатні гідролізувати ні гістон Н1, ні ОБМ. Водночас встановлено, що 15 із 38 препаратів IgG (39,5%) обстежених пацієнтів, хворих на СЧВ із різною ефективністю гідролізують гістон Н1 і ОБМ. У цьому випадку із 15 пацієнтів, хворих на СЧВ у яких в сироватці крові виявлено протабзими, 14 перебували у стадії загострення хвороби (93,3%).

Протеолітична активність IgG-антитіл сироватки крові хворих на СЧВ щодо гідролізу гістону Н1 і основного протеїну мієліну пов'язана із загостренням хвороби і може слугувати маркерами важкості перебігу цього захворювання.

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ЕНТЕРОТОМНІЙ РАНІ ТОНКОЇ КИШКИ КРОЛЯ

МАЗУР О. Є., МАЗУР Ю. І., СКЛЯРОВ О. Я.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: jurijmazur@mail.lviv.ua*

Досліджували вміст малонового діальдегіду (Тимирбулатов Р., 1981), активність каталази (Королюк М., 1988), глутатіонпероксидази (Моїн В. М., 1986), супероксиддисмутази (Костюк В. А., 1990) у тканині тонкої кишки кроля до і після контрольної ентеротомії (1,5–2 см). Тварин ($n = 14$) оперували під дом'язовим комбінованим наркозом і виводили з експерименту на 3-, 7- та 14-ий день після операції.

Вміст малонового діальдегіду зростав на 3-тю добу експерименту: $380,72 \pm 40,74$ мкМ/мг тканини проти вихідного $264,41 \pm 30,17$ мкМ/мг тканини ($P \leq 0,05$), але значно зменшувався на 7-му добу: $103,1 \pm 9,7$ мкМ/мг тканини проти вихідного $264,41 \pm 30,17$ мкМ/мг тканини ($P \leq 0,01$) та повертався майже до вихідного $191,44 \pm 11,79$ проти $264,41 \pm 30,17$ мкМ/мг тканини ($P > 0,05$).

Активність каталази незначно (недостовірно) коливалася в межах вихідного рівня $1,81 \pm 0,08$ ммоль H_2O_2 /хв·мг протеїну впродовж всього терміну спостереження.

Активність глутатіонпероксидази значно зростала на 3-тю добу після ентеротомії: $2,34 \pm 0,09$ мМГSH/хв·мг протеїну проти контролю $1,04 \pm 0,06$ мМГSH/хв·мг протеїну ($P \leq 0,01$), тоді як значно зменшувалася на 7-му добу — $0,09 \pm 0,01$ мМГSH/хв·мг протеїну проти $1,04 \pm 0,06$ мМГSH/хв·мг протеїну ($P \leq 0,05$) та поверталася до вихідної $0,98 \pm 0,05$ мМГSH/хв·мг протеїну проти $1,04 \pm 0,06$ мМГSH/хв·мг протеїну ($P > 0,05$).

Активність супероксиддисмутази достовірно зменшувалася на 3-тю добу після ентеротомії: $11,34 \pm 0,06\%$ інгібування проти $15,63 \pm 0,41\%$ ($P > 0,05$); зростала на 7-му та зменшувалася на 14-ту добу — $8,17 \pm 0,52\%$ інгібування проти $15,63 \pm 0,41\%$ інгібування ($P \leq 0,05$).

Таким чином, травматичне ушкодження тканини тонкої кишки призводить до підвищення рівня пероксидного окислення ліпідів і, як наслідок, значного, більш як у 2 рази, зростання активності глутатіонпероксидази.

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ З УСКЛАДНЕНИМИ ФОРМАМИ ХРОНІЧНОГО ПАНКРЕАТИТУ

МАКАРЧУК В. А., СОГІНА Т. М., МАШТАЛЕР О. М.

*ДУ «Інститут гастроентерології АМН України», Дніпропетровськ;
e-mail: inklenina@yandex.ru*

Мета роботи — оцінити стан зовнішньосекреторної функції підшлункової залози (ПЗ) у разі її патологічного стану за допомогою вивчення особливостей змін біохімічних показників крові, які характеризують процеси фіброзу, холестазу і ступінь ендотоксемії.

Досліджували сироватку крові у двох групах пацієнтів з ускладненими формами хронічного панкреатиту (ХП): І група — 41 пацієнт з постнекротичними кістами ПЗ, ІІ група — 29 пацієнтів з ХП. Для оцінки ступеня фіброзу визначали протеїнзв'язаний оксипролін (ОПп/зв) та гексозаміни (ГА), холестазу — γ -глутаміл-трансферазу (ГГТП), жовчні кислоти (ЖК), патологічний Х-ліпопротеїн (Х-ЛП); ендотоксемії — молекули середньої маси (МСМ). Контрольну групу склали 20 практично здорових людей. Біохімічні показники, які були визначені у сироватці крові здорових осіб, стали критерієм їхньої оцінки у пацієнтів із патологією ПЗ. Для статистичної обробки отриманих даних був використаний пакет статистичних програм SPSS 10.0 for Windows. Розходження вважали достовірними у разі $P < 0,05$ – $0,001$.

У пацієнтів обох груп спостерігали достовірне збільшення рівня ОПп/зв ($P < 0,001$) та ГА ($P < 0,01$ – $0,001$) в 1,4 раза для двох груп відповідно. У хворих з ХП в 3,8 раза підвищилася активність ГГТП ($P < 0,001$), в той час як у пацієнтів з постнекротичними кістами ПЗ даний показник залишався в межах фізіологічної норми, спостерігали незначне збільшення рівня ЖК у І та ІІ групах пацієнтів, а концентрація Х-ЛП зросла в 1,7 ($P < 0,001$) та 1,5 ($P < 0,01$) раза для обох груп відповідно. У хворих І групи спостерігали вірогідне підвищення рівня МСМ у 1,7 раза ($P < 0,001$), а у ІІ групі — у 1,3 раза ($P < 0,001$).

Таким чином, у пацієнтів з ХП та з постнекротичними кістами ПЗ встановлені ознаки фіброзу органу, що підтверджується збільшенням рівня ОПп/зв та ГА. У хворих ІІ групи більш виражені ознаки холестазу (висока активність ГГТП та Х-ЛП), ніж у пацієнтів І групи. У всіх хворих з ускладненими формами ХП відмічається досить висока ступінь ендогенної інтоксикації.

КОЕКСПРЕСІЯ ЦИТОХРОМУ P-450 2E1 (CYP2E1) ТА ПРОТЕЇНУ ТЕПЛОВОГО ШОКУ HSP90 У ПЕЧІНЦІ МИШЕЙ ЗА ХРОНІЧНОЇ ДІЇ ЕТАНОЛУ

МАКСИМЧУК О. В., РОСОХАЦЬКА І. В., КІТАМ В. О.,
РОЖКО О. Т., СИДРИК Л. Л., ЧАЩИН М. О.

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ;
e-mail: prima@imbg.org.ua*

Однією з основних функцій CYP2E1 — ізоформи цитохрому P-450, є здійснення біотрансформації ксенобіотиків. Ця ізоформа характеризується високою оксидазною активністю та здатністю генерувати активні радикали кисню під час свого каталітичного циклу навіть за відсутності субстрату. Отже, цитохром P-450 2E1 бере активну участь у регуляції окисно-відновного балансу у клітині. Відомо, що збільшення експресії CYP2E1 у разі хронічної дії етанолу спричинює посилення пероксидних процесів у клітині, внаслідок чого може розвинути оксидативний стрес. Нами показано, що хронічне вживання 10% етанолу у питній воді призводить до збільшення вмісту CYP2E1 у гепатоцитах мишей, що супроводжувалось розвитком оксидативного стресу. Останній спричинював структурно-функціональні розлади печінки тварин. На основі отриманих даних було запропоновано тварину модель розвитку етанольної гепатотоксичності.

Відомо, що період напівжиття CYP2E1 може значно подовжуватись у присутності субстрату. Вважається, що швидкість деградації CYP2E1 залежить від активності убіквітин-протеасомної системи. Оскільки баланс цілісності та деградації протеїнів у клітині залежить від Hsp90/Hsp70-шаперонового функціонального комплексу, важливим є питання дослідження регуляції CYP2E1 за участі протеїнів теплового шоку. Нещодавно було показано ключову роль цитозольного Hsp90 у регуляції вмісту мікросомного цитохрому P-450 2E1, але механізми таких процесів залишаються маловивченими. На тваринній моделі хронічної етанольної гепатотоксичності нами було досліджено можливий взаємозв'язок між змінами експресії CYP2E1 і Hsp90 на рівні протеїну. Визначення змін вмісту досліджуваних протеїнів проводили за допомогою методу Вестерн-блот аналізу лізатів печінки тварин, які вживали етанол у питній воді впродовж 5 тижнів. Було виявлено статистично достовірне зростання вмісту як CYP2E1, так і Hsp90 у печінці дослідних тварин майже у два рази порівняно із контролем.

Детальне дослідження особливостей коекспресії цитохрому P-450 2E1 з іншими протеїнами партнерами, що регулюють вміст CYP2E1 в печінці за умов хронічної дії етанолу, значно розширять наші уявлення щодо механізмів розвитку етанольної гепатотоксичності.

ВПЛИВ ПИТНОГО ПРИЙОМУ ГІДРОКАРБОНАТНОЇ НАТРІЄВОЇ МІНЕРАЛЬНОЇ ВОДИ НА ЕЛЕКТРОЛІТНИЙ ОБМІН У ХВОРИХ З ПОЄДНАНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ ТА СЕЧОВИДІЛЕННЯ

¹МАЛИНОВСЬКА В. Г., ²ФАБРІ З. Й., ¹КУДИК В. Г.

¹Науково-практичне об'єднання "Реабілітація", Ужгород, Україна;

²Ужгородський національний університет, Україна;

e-mail: malin@ukrpost.net

З метою оцінки впливу курсу питного прийому середньомінералізованої гідрокарбонатної натрієвої мінеральної води (МВ) Поляна Квасова на основні показники електролітного обміну у 16 хворих з поєднаною патологією органів травлення та сечовидільної системи віком від 20 до 40 років проведено дослідження концентрації електролітів (Na^+ , K^+ , та Cl^-) у сироватці крові за допомогою біохімічного аналізатора "POINT – 180" та діагностичних наборів цієї ж фірми. Рівень екскреції електролітів з сечею визначався електрохімічним методом за допомогою рН-метра OP-113 MINI-DIGI та іонселективних електродів (RADELKIS, Угорщина).

Проведені дослідження показали, що в кінці лікування спостерігалось незначне зростання концентрації Na^+ у крові (з $153,3 \pm 4,0$ до $163,2 \pm 2,7$ ммоль/л, $P < 0,05$) та Na^+ -урезу (з $114,5 \pm 15,5$ до $131,6 \pm 12,9$ ммоль/л, $P > 0,4$), що свідчить про помірну Na^+ -уретичну дію МВ. Практично не змінилася концентрація K^+ у крові ($5,0 \pm 0,3$ та $5,4 \pm 0,2$ ммоль/л, $P < 0,3$). Водночас в кінці курсу лікування достовірно зростає рівень екскреції K^+ з сечею (з $51,8 \pm 8,3$ до $90,5 \pm 8,2$ ммоль/л, $P < 0,01$). Зважаючи на збільшення надходження лужних сполук, що проявляється зростанням рН сечі та крові в межах фізіологічних коливань, ймовірно, як механізм компенсації у відповідь на олужнення організму, у дистальних каналцях нефрону відбувається підвищення секреції іонів K^+ разом з іонами H^+ . Рівень хлоридів у крові та їхня екскреція з сечею незначно знижуються, паралельно Na^+ , у співвідношенні, близькому до 1 : 1, з незначним переважанням екскреції Cl^- . Збереження електронейтральності крові відбувається за рахунок підвищення концентрації HCO_3^- , як результат додаткового їхнього надходження з МВ, про що свідчить зростання BBS (співвідношення між основними електролітами – $(\text{K}^+ + \text{Na}^+) - \text{Cl}^-$) з $61,7 \pm 1,94$ до $74,5 \pm 1,51$ ммоль/л ($P < 0,01$).

Одержані результати в цілому вказують на відсутність негативного впливу питного прийому МВ Поляна Квасова на електролітний обмін – підвищення екскреції Na^+ та Cl^- з сечею на фоні підвищення бікарбонатного резерву організму свідчить про відсутність небезпеки накопичення цих іонів в організмі, а посилення K^+ -урезу відбувається, ймовірно, за рахунок збільшення його секреції в каналцях нефрону, як одного з механізмів регуляції кислотно-лужної рівноваги організму.

**ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЙ
НЕФРОЦИТОВ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕДИ**

МАРТЫНОВА С. Н., ГОРБАЧ Т. В., МЕДЫНСКАЯ О. И.

*Харьковский национальный медицинский университет, Украина;
e-mail: 5mart5@ukr.net*

В ряде работ показано, что одной из причин увеличения числа нефропатий у детей может быть загрязнение поверхностных вод тяжелыми металлами. Целью нашей работы было изучение липидного спектра мембран субклеточных фракций нефроцитов крыс при введении меди в повышенной концентрации. Эксперименты проведены на 1-месячных крысах-самцах линии Вистар. Крысам ежедневно (в течение месяца) внутрижелудочно вводили водный раствор хлорида меди (II) в концентрации 1,75 мг/л (из расчета 1 мл на 100 г веса животного). Контрольной группе в таких же условиях вводилась вода. Через месяц животные выведены из эксперимента путем декапитации. Субклеточные фракции почек получали дифференциальным центрифугированием. Липиды фракционировали методом тонкослойной хроматографии на силикагелевых пластинах. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в микросомной фракции почек увеличивается содержание фосфолипидов (в 1,5 раза), фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, снижается содержание сфингомиелина и фосфатидилинозитолов. Содержание холестерина и эфиров холестерина несколько снижено, что, вероятно, связано с пониженной утилизацией почками мевалоната и синтеза из него холестерина. В ядрах нефроцитов содержание свободного холестерина увеличено, а эфиров холестерина — снижено, увеличена концентрация диацилглицеролов ($0,33 \pm 0,03$ мл/г — в контрольной группе, $0,42 \pm 0,02$ — в опытной). В митохондриальной фракции увеличено содержание меди, значительно снижено содержание свободного холестерина (контроль $0,22 \pm 0,01$ мл/г, опыт — $0,09$ мл/г) и эфиров холестерина (контроль $0,37 \pm 0,01$ мл/г, опыт — $0,28 \pm 0,02$ мл/г), содержание общих фосфолипидов — увеличено ($0,71 \pm 0,03$ мл/г — контроль, $1,18 \pm 0,1$ мл/г — опыт), значительно повышен уровень лизофосфатидилхолина. Такие изменения в липидном составе мембран снижают их жесткость, увеличивают проницаемость, что приводит к снижению дыхательного контроля и энергопродукции. В цитозольной фракции, где также повышено содержание меди, возрастает концентрация свободных жирных кислот, лизофосфатидилхолина, снижена концентрация эфиров холестерина, сфингомиелина, фосфатидилинозитолов. Во фракции цитоплазматических мембран нефроцитов снижено содержание общих фосфолипидов (преимущественно за счет фосфатидилхолина и фосфатидилинозитолов), почти в 2 раза повышена концентрация лизофосфатидилхолина, концентрация холестерина и триглицеридов практически не отличаются от таковых у контрольных животных. Полученные нами экспериментальные данные свидетельствуют о том, что при введении водного раствора хлорида меди (II) изменяется фракционный состав субклеточных фракций мембран нефроцитов, что можно расценивать как процесс их дестабилизации. Выявленные нами изменения в липидном спектре могут стать причиной снижения энергообеспеченности, а следовательно нарушения процессов реабсорбции и секреции.

ВПЛИВ ДІЕТИЛДИТІОКАРБАМАТУ ТА АМІНООКСИОЦТОВОЇ КИСЛОТИ НА ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ ЗАЛІЗА У ЩУРІВ З ЦИС-ПЛАТИНОВИМ ТА БРОМБЕНЗОЛОВИМ УРАЖЕННЯМ НИРОК

МАШЕВСЬКА О. В.

*Вінницький національний медичний університет
ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail: mashevskaya1@yandex.ru*

В попередніх дослідженнях було показано, що механізми нефротоксичної дії цис-платину та бромбензолу реалізуються через метаболічну активацію та розвиток оксидативного стресу, в тому числі і за рахунок посиленого вивільнення заліза. Введення інгібіторів ксенобіотик-метаболізуючих ензимів діетилдитіокарбамату та амінооксиоцтової кислоти зменшувало процеси токсифікації цис-платину та бромбензолу в нирках. Однак, питання, як вказані модулятори впливають на процеси обміну заліза в нирках, залишається невизначеним. Метою цієї роботи було вивчення впливу діетилдитіокарбамату та амінооксиоцтової кислоти на показники обміну заліза в плазмі крові та нирках за умов цис-платинової та бромбензолової нефропатії.

Досліди проведені на 64 щурах-самцях популяції Вістар. Гостре ураження нирок викликали одноразовим введенням цис-платину (7 мг/кг маси тіла) або бромбензолу (1 г/кг маси тіла). Діетилдитіокарбамат (100 мг/кг маси тіла) вводили за 24 год та за 2 год перед введенням цис-платину чи бромбензолу. Амінооксиоцтову кислоту (15 мг/кг маси тіла) вводили за 1 год до та через 5 год після введення нефротоксикантів.

Введення цис-платину та бромбензолу щурам викликало зростання вмісту заліза в плазмі крові в 2,4 та 2,0 рази, зниження латентної залізовв'язуючої здатності плазми крові в 2,2 та 1,2 раза та підвищення вмісту негемового заліза в нирках — в 2,1 та 1,9 раза, відповідно. Діетилдитіокарбамат та амінооксиоцтова кислота зменшували масштабність порушень метаболізму заліза в нирках, індукованих нефротоксикантами. На тлі вказаних модуляторів цис-платин викликав підвищення вмісту заліза в плазмі крові лише на 35–37%, зниження латентної залізовв'язуючої здатності плазми — на 59–61%, зростання вмісту негемового заліза в нирках на 76–77%. Подібний вплив діетилдитіокарбамату та амінооксиоцтової кислоти на обмін заліза відмічався і при бромбензоловому ураженні нирок. Таким чином, механізми протективної дії використаних інгібіторів не обмежуються впливом на процеси метаболічної активації нефротоксикантів, а й реалізуються через корекцію обміну заліза в нирках.

**КЛІНІКО-ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ХАРАКТЕРУ
РОЗПОДІЛУ α_1 -КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ
НА ПОВЕРХНІ І ВСЕРЕДИНІ ЛЕЙКОЦИТІВ
ЗА ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ ТА ЦИРОЗАХ**

МАШЕЙКО І. В., БРАЗЛУК О. З., МАСЛАК Г. С.,
ШЕВЧЕНКО О. П.

*Дніпропетровська державна медична академія, Україна;
e-mail: mash_7@mail.ru*

Значний рівень інфікування населення вірусами гепатитів В та С, епідеміологічні особливості поширення, як фульмінантного так і латентного перебігу з подальшим розвитком цирозу печінки, свідчить про високу наукову актуальність та медико-соціальне значення проблеми вірусних уражень печінки. На сучасному етапі розвитку гепатології доведено, що при хронічному вірусному гепатиті С (ХВГС) та цирозі лабораторні показники часто не відповідають ступеню фіброзу печінки. Відомо, що при вірусних гепатитах, в першу чергу, змінюється концентрація гострофазових протеїнів, зокрема альфа-1-кислого глікопротеїну (АГП), який синтезується гепатоцитами.

Метою роботи було дослідження змін вмісту та характеру розподілу АГП у популяціях лейкоцитів крові хворих і пошук найбільш інформативних показників перебігу гострих вірусних гепатитів та предикторів переходу їх у хронічні форми і цироз печінки.

Концентрацію й розподіл АГП визначали у крові 28 хворих на вірусні гепатити В та С, цироз печінки. В контрольну групу входило 10 здорових донорів. Вміст АГП визначали методом імунодот. Популяції лейкоцитів оцінювались за розподілом АГП на поверхні і всередині клітин, порівняно з контролем, на проточному цитометрі Beckman Coulter®.

Середній вміст АГП у сироватці контрольної групи (10) склав $0,704 \pm 0,037$ г/л. У групі хворих з гострим вірусним гепатитом В (ГВГВ) (10): вміст АГП був підвищений до $1,58 \pm 0,133$ г/л. У групах хворих на хронічний вірусний гепатит С (ХВГС) (8) та з цирозом печінки (10) рівень АГП перебував у верхньому діапазоні норми: $0,91 \pm 0,115$ г/л та $1,02 \pm 0,086$ г/л відповідно.

Аналіз розподілу АГП у популяціях лейкоцитів показав, що найбільш суттєві зміни спостерігаються у лімфоцитів. Альфа-1-кислий глікопротеїн у популяції лімфоцитів розподілений таким чином: за умов ГВГВ на поверхні (на 63,57%) та всередині (на 155,65%); у разі ХВГС на поверхні (на 21,6%) та всередині (на 82,2%); при цирозі на поверхні (на 33,22%) та всередині (на 82,75%), що перевищує контрольні показники.

Таким чином встановлено, що концентрація АГП у сироватці хворих на гострий вірусний гепатит В змінюється не так суттєво, ніж його експресія на поверхні й всередині лімфоцитів. У групах хворих з хронічним гепатитом С та цирозом концентрація АГП та характер його розподілу у популяціях клітин крові є близькими, що свідчить про загальні для цих станів зміни у організмі — поступовий фіброз печінки з переходом у цироз. Вивчення розподілу АГП у популяціях клітин крові може використовуватись як більш інформативний показник перебігу гострих вірусних гепатитів та предиктор переходу їх у хронічні форми і цироз печінки.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕНЗИМІВ МЕТИЛУВАННЯ ТА ТРАНССУЛЬФУВАННЯ ГОМОЦИСТЕЇНУ В НИРКАХ ЩУРІВ

МЕЛЬНИК А. В., ЛУЦЮК М. Б.

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

Гіпергомоцистеїнемія нині розглядається як фактор розвитку та прогресування чисельних патологічних станів. Головними органами, в яких відбувається метаболізм гомоцистеїну (ГЦ), є печінка та нирки. Обмін ГЦ в печінці є більш-менш дослідженим, в той час як процеси утворення та утилізації цієї амінокислоти в нирках остаточно нез'ясовані. Більш детальне дослідження шляхів метаболізму ГЦ в нирках покращило б розуміння механізмів формування синдрому гіпергомоцистеїнемії та його ролі у розвитку патології нирок.

Метою даної роботи було вивчення кінетичних характеристик ензимів шляхів метилування та транссульфування в нирках інтактних щурів. Для досліджень використано гомогенати нирок 25 білих щурів-самців (масою 200–250 г), в яких визначали активність та кінетичні параметри бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази (БГМТ), метіонаденозилтрансферази (МАТ), S-аденозилгомоцистеїнгідролази (S-АГГ), цистатіонін- β -синтази (ЦБС) та цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ).

Встановлено, що в нирках щурів активність ензимів транссульфування значно перевищує активність ензимів метилування ГЦ. Так, питома активність БГМТ становила $2,43 \pm 0,10$, тоді як ЦБС та ЦГЛ – $15,2 \pm 0,35$ та $15,1 \pm 0,49$ нмоль/хв на 1 мг протеїну. Дослідження кінетичних характеристик показало, що в нирках спорідненість ЦБС до ГЦ є невисокою, оскільки її K_m становить 8,28 мМ проти 1,78 мМ у БГМТ. В той же час, здатність ЦБС нирок утилізувати ГЦ значно перевищувала таку у БГМТ. Це підтвердив аналіз V_{max} , яка для ЦБС становила 59,8 проти 5,49 нмоль/хв для БГМТ.

Постає питання: які ж кількості ГЦ утворюються в клітинах нирок? Швидкість утворення ендogenous ГЦ до деякої міри відображає активність ензимів МАТ та S-АГГ, які каталізують перетворення ключових попередників ГЦ – метіоніну та S-аденозил ГЦ. Активність цих ензимів в нирках була співставною з активністю БГМТ і становила для МАТ та S-АГГ $2,99 \pm 0,19$ та $5,07 \pm 0,20$ нмоль/хв на 1 мг протеїну, відповідно. У цьому разі кінетичні характеристики S-АГГ нирок ($K_m = 0,05$ мМ, $V_{max} = 7,13$ нмоль/хв) дозволяють запобігти накопиченню в клітинах S-аденозилГЦ – головного інгібітора метилтрансфераз. Цілком очевидно, що ефективну утилізацію тієї кількості ГЦ, яка утворюється в нирках, може забезпечити шлях метилування. Тоді як, при зростанні загального пулу ГЦ в організмі превалюючу роль будуть виконувати ензими транссульфування нирок.

УРОВЕНЬ НЕКОТОРЫХ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ С РЕГМАТОГЕННОЙ ОТСЛОЙКОЙ СЕТЧАТКИ

*МЕТЕЛИЦЫНА И. П., ЛЕВИЦКАЯ Г. В.,
ГАФФАРИ САХБИ БЕН МОХАМЕД МОНСЕФ*

*ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии
им. В. П. Филатова АМН Украины», Одесса;
e-mail: dr_sahbi@mail.ru*

Известна роль цитокинов в иммунопатогенезе заболеваний глаз как активных биорегуляторов воспалительных и репаративных процессов. Изучение направленности и выраженности изменений про- и противовоспалительных цитокинов при регматогенной отслойке сетчатки (РОС) может иметь важное значение для разработки патогенетически обоснованных способов вторичной нейропротекции. Учитывая, что патогенетически неблагоприятные реакции могут развиваться как на местном, так и системном уровне, целью данных исследований явилось определение уровня цитокинов в плазме крови и субретинальной жидкости (СРЖ) у пациентов с РОС.

Уровень интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10) определяли у 9 больных с РОС и 10 практически здоровых лиц иммуноферментным методом с использованием соответствующих тест-систем. Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 6.0.

Уровень интерлейкинов в крови больных РОС составил для ИЛ-1 β $2,88 \pm 0,47$ пг/мл, ИЛ-6 $8,46 \pm 1,04$ пг/мл, ИЛ-4 $2,69 \pm 0,26$ пг/мл и ИЛ-10 $113,62 \pm 23,61$ пг/мл, что достоверно выше по сравнению с данными у здоровых лиц (в 15,2; 2,1; 4,3 и 22,3 раза соответственно). Уровень исследуемых про- и противовоспалительных цитокинов в СРЖ составил $6,80 \pm 0,96$ пг/мл для ИЛ-1 β ; $279,32 \pm 26,87$ пг/мл для ИЛ-6; $5,39 \pm 0,58$ пг/мл для ИЛ-4 и $97,28 \pm 18,42$ пг/мл для ИЛ-10, что свидетельствует о более выраженной активации иммунновоспалительных процессов на местном уровне. Учитывая, что в норме цитокины секретируются в низких концентрациях, повреждение гематоофтальмического барьера при РОС приводит к их повышенной выработке клетками сосудистой оболочки, пигментного эпителия сетчатки и эпителия хрусталика. Стимуляция системной продукции цитокинов при РОС носит вторичный характер и может быть обусловлена реакцией на антигены сетчатки, попадающие в кровь вследствие ее повреждения.

Полученные нами данные об уровне цитокинов в плазме крови и СРЖ у пациентов с РОС, в целом, позволяют судить о степени активации воспалительного процесса и являются основанием для метаболической коррекции выявленных нарушений с целью нейропротекции сетчатки.

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ШЛЯХУ ОКИСЛЕННЯ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛОКСАНОВОГО ДІАБЕТУ ТА У РАЗІ ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ

МЕЩИШЕН І. Ф., ЯРЕМІЙ І. М., КУШНІР О. Ю.

*Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна;
e-mail: alexcv83@rambler.ru*

Метою роботи було з'ясувати вплив мелатоніну на активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), 6-фосфоглюконатдегідрогенази (6-ФГДГ) та транскезолази (ТК) в печінці щурів у разі алоксанового цукрового діабету за умов нормо-, гіпер- та гіпофункції епіфізу.

Експерименти проведені на самцях безпородних білих щурів масою 180 ± 10 мг. Фотоперіодичні зміни моделювали впродовж 12 діб: 1) природне рівнодення з 19 по 25 березня (С12:Т12); 2) штучне рівнодення (світло з 8-ї до 20-ї год, 500 лк); 3) постійне світло протягом доби (500 лк); 4) постійна темрява протягом доби. Алоксановий діабет, викликали шляхом уведення 5%-го розчину алоксану моногідрату внутрішньоочеревинно в дозі 170 мг/кг одноразово, після 24-годинного голодування. Визначення рівня базальної глікемії (БГ) проводили за допомогою приладу One Touch Ultra (Johnson & Johnson, США). На третю добу спостерігали загибель 50% алоксан-діабетичних щурів. Дослідних тварин було розділено на групи: 1) інтактні щури; 2) щури з явним цукровим діабетом (ЦД) ($\text{БГ} \geq 8,0$ ммоль/л); 3) щури з явним ЦД, яким з 5-ої доби після уведення алоксану впродовж тижня щоденно о 8 год ранку внутрішньоочеревинно вводили мелатонін (Sigma, США) у дозі 10 мг/кг маси; 4) щури з явним ЦД, які з 5-ої доби отримували ін'єкції інсуліну у дозі 2–3 МО/тварину; 5) щури з прихованим ЦД ($\text{БГ} \leq 6,9$ ммоль/л); 6) щури з прихованим ЦД, яким аналогічно вводили мелатонін у дозі 10 мг/кг маси. Тварин забивали на 12 добу від початку експерименту у відповідності до етичних принципів експериментів на тваринах. У супернатанті, отриманому після центрифугування 5%-го гомогенату печінки при 900 g, визначали активність ензимів за стандартними методиками. Статистичну обробку проводили за методом Ст'юдента.

Встановлено, що у печінці щурів із явним ЦД за умов рівнодення активність Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ та ТК знижується на 42, 32 і 40% відповідно, порівняно з контролем. Активність Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ у тварин з прихованим ЦД на 77 та 64% відповідно вища, ніж у інтактних. У печінці інтактних тварин, які перебували за умов постійної темряви, активність Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ та ТК зросла на 38, 29 та 12% відповідно, водночас за умов постійного світла активність Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ та ТК знижується на 18, 10 та 15%, порівняно із показниками інтактних тварин за умов рівнодення. Під час постійної темряви у тварин з явним ЦД активність Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ та ТК зросла на 32, 22 та 19% відповідно; за умов постійного світла вона знизилася на 34, 17 та 28% відповідно, у порівнянні з контролем. У разі постійної темряви на фоні прихованого ЦД зросла активність Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ та ТК на 115, 95 та 30%; за умов постійного світла активність Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ та ТК мала значення на 24, 16 та 22% нижчі, ніж у групі інтактних тварин за умов рівнодення. Уведення мелатоніну тваринам із явним ЦД призвело до: 1) зростання активності

Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ та ТК на 40, 31 та 25% відповідно, у порівнянні з показниками інтактних тварин, за умов рівнодення; 2) нормалізації зазначених показників за умов постійної темряви; 3) підвищенню активності Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ та ТК на 140, 123 та 60% відповідно, у порівнянні з контролем, за умов постійного світла. У тварин з прихованим цукровим діабетом під впливом мелатоніну за всіх умов освітлення відбулася нормалізація вказаних показників (окрім активності Г-6-ФДГ за умов постійного світла у разі прихованого ЦД, яка зростала на 20%, у порівнянні з інтактними тваринами при рівноденні).

Уведення мелатоніну у дозі 10 мг/кг маси сприяло відновленню амфіболічної та енергетичної функції пентозофосфатного шляху окислення глюкозо-6-фосфату за умов цукрового діабету на фоні зміненого фотоперіоду.

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ІЗОЕНЗИМУ N-АЦЕТИЛ- β -D-ГЛЮКОЗАМІНІДАЗИ В ДЛЯ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ СТУПЕНЯ АКТИВНОСТІ ПІЄЛОНЕФРИТУ У ДІТЕЙ

*МИГАЛЬ Л. Я., БАГДАСАРОВА І. В., ЛАВРЕНЧУК О. В.,
ФОМІНА С. П., КОРОЛЬ Л. В.*

*ДУ «Інститут нефрології НАМН України»;
ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ;
e-mail: urolog@rql.net.ua*

Пієлонефрит (ПН), що характеризується значною поширеністю та схильністю до рецидивування, на сьогодні є найбільш частою причиною розвитку хронічної ниркової недостатності у дитячому віці. Відомо, що обсяг та тривалість лікування дітей, хворих на ПН, у першу чергу залежить від своєчасної діагностики кожного із трьох ступенів активності запального процесу у нирках цих дітей.

Обстежено 186 дітей віком від 2 до 16 років: 54 хворих з активною стадією запального процесу I ступеня (1 група), 68 пацієнтів – II ступеня (2 група) та 64 пацієнти – III ступеня (3 група). Також обстежено 25 практично здорових дітей того ж віку (контроль). Ступінь активності пієлонефриту в сечі дітей оцінювали за рівнем активності термостабільного каналцевого ізоензиму N-ацетил- β -D-глюкозамінідази В (НАГ В) лізосомного походження. Активність НАГ В у сечі виражали у мкмоль р-нітрофенолу, що утворився протягом 1 год, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі.

Встановлено, що у сечі хворих I-ї групи активність НАГ В складала за середніми даними $4,0 \pm 0,9$; 2-ї групи – $8,0 \pm 1,0$; 3-ї групи – $15,4 \pm 1,1$ та у контролі – $1,6 \pm 0,1$ відповідних одиниць, що статистично вірогідно як у відношенні кожної із груп до групи контролю ($P < 0,01$ – $0,001$), так і у відношенні поміж групами (P_{1-2} , $P_{2-3} < 0,05$ – $0,01$). Індивідуальний аналіз отриманих результатів щодо визначення активності НАГ В у сечі дітей у кожній із досліджуваних груп окремо показав, що в 1-й групі пацієнтів було зареєстровано збільшення активності цього показника вище за контрольні значення у 1,5–3,4 раза, що дозволяє діагностувати I-й або мінімальний ступінь активності пієлонефритичного процесу у дітей; у

2-й групі пацієнтів – у 3,5–5,4 раза, що дозволяє діагностувати II-й або помірний ступінь активності пієлонефритичного процесу у дітей; у 3-й групі пацієнтів – у 5,5 раза та більше, що дозволяє діагностувати III-й або максимальний ступінь активності пієлонефритичного процесу у дітей. Кореляційний аналіз підтвердив, що між рівнем активності термостабільного ізоензиму НАГ В у сечі хворих дітей та ступенем активності пієлонефритичного процесу існує досить тісний кореляційний зв'язок ($r = 0,91 \pm 0,073$, $P < 0,001$).

Таким чином, визначення активності ізоензиму НАГ В як метод диференційної діагностики ступеня активності ПН у дітей є абсолютно безпечним для хворої дитини та діагностично значущим.

ЕНЗИМИ СЕЧІ ЯК ПОКАЗНИКИ УРАЖЕННЯ ТУБУЛЯРНОГО ВІДДІЛУ НЕФРОНУ У ДІТЕЙ З РІЗНИМИ КЛІНІЧНИМИ ВАРІАНТАМИ ВРОДЖЕНОГО МЕГАУРЕТЕРА

*МИГАЛЬ Л. Я., НІКУЛІНА Г. Г., СЕРБІНА І. Є.,
ПЕТЕРБУРГСЬКИЙ В. Ф., СЕЙМІВСЬКИЙ Д. А.,
КАЛІЩУК О. А., НІКІТАЄВ С. В.*

*ДУ «Інститут урології НАМН України»;
ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ;
e-mail: urolog@rql.net.ua*

Вроджений мегауретер (МУ) – і на сьогодні серйозна проблема дитячої урології, що підтверджується його високою частотою у структурі хвороб, які ускладнюються розвитком хронічної ниркової недостатності. Суттєве значення в патогенезі ушкодження паренхіми нирок, зокрема тубулярного відділу нефрону, у дітей з МУ надається гіпоксії, яка стимулює активацію каналцевих ензимів, таких як лізосомні гідролази N-ацетил- β -D-глюкозамінідаза (НАГ, КФ 3.2.1.30) та β -галактозидаза (β -Гал, КФ 3.2.1.23) та ензими щіткової облямівки γ -глутамілтранспептидаза (ГГТ, КФ 2.3.2.2) та нейтральна α -глюкозидаза (Н- α Гл, КФ 3.2.1.20) – чутливих індикаторів функціонального стану тубулярного нефротелію.

З метою вивчення особливостей змін активності умовно реноспецифічних ензимів НАГ, β -Гал, ГГТ та Н- α Гл у сечі дітей з різними клінічними варіантами МУ (віком від 0,5 до 15 років) обстежено 44 пацієнти з обструктивним МУ (ОМУ) переважно чоловічої статі і 35 хворих з рефлюксуючим МУ (РМУ) переважно жіночої статі та 25 практично здорових дітей (група контролю).

Аналіз змін активності ензимів, що досліджувалися, поміж групами дітей як з вродженим ОМУ, так і з вродженим РМУ та групою контролю показав, що у хворих з ОМУ та РМУ підвищення активності НАГ, β -Гал, ГГТ та Н- α Гл було статистично вірогідним ($P < 0,001$); водночас порівняльний аналіз поміж групою пацієнтів з ОМУ та групою хворих з РМУ продемонстрував статистично вірогідне підвищення активності перелічених ензимів у сечі дітей з РМУ (0,05–0,001), що додатково свідчить, з одного боку, про виражену діагностичну інформативність цих ензимологічних показників, а з другого – про більш помітне ураження тубулярного відділу нефрону саме у дітей з вродженим РМУ.

Встановлені відмінності у сечі хворих з РМУ та ОМУ ензимологічних показників як критеріїв, що об'єктивно віддзеркалюють функціональний стан каналцевого нефротелію, доцільно враховувати щодо оцінки ефективності впливу різних методів лікування (медикаментозна терапія, апаратне лікування, хірургічна корекція) на відновлення дисфункціональних порушень у дітей з різними клінічними варіантами вродженого МУ.

**ПРО МОЖЛИВІСТЬ ПРОГНОЗУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ
ТЕРАПІЇ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ
З НЕФРОТИЧНИМ СИНДРОМОМ,
ЗА ЕНЗИМОЛОГІЧНИМИ КРИТЕРІЯМИ**

МИГАЛЬ Л. Я., БАГДАСАРОВА І. В., ФОМІНА С. П.,
КОРОЛЬ Л. В.

*ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ;
e-mail: urolog@rql.net.ua*

Серед нозологічних форм ниркових хвороб особливе місце займає гломеруло-нефрит (ГН) і, зокрема ГН з нефротичним синдромом (НС). Актуальність даної проблеми визначає необхідність довготривалого лікування, схильність до хронізації патологічного процесу в нирках та можливість розвитку хронічної ниркової недостатності. Складовою програми щодо запобігання прогресування та хронізації патологічного процесу в нирках є вдосконалення методів прогнозування результатів лікування ГН з НС та відповідно його перебігу у дітей. Вагоме місце у прогресуванні ГН з НС займають параметри, що насамперед відбивають функціональний стан паренхіми нирок. У зв'язку з тим, що нирки є найбільшим джерелом ензимів, які виявляються у сечі, визначення активності ензимів сечі на сьогодні вважається найбільш інформативним методом, що об'єктивно відбиває функціональний стан паренхіми нирок, зокрема функціональний стан каналцевого відділу нефрону. З метою дослідження ензимологічних критеріїв прогнозування ефективності терапії у дітей, хворих на ГН з НС, до початку програмного лікування у сечі 83 пацієнтів віком від 2 до 17 років та у 25 практично здорових дітей того ж віку (контроль) проведено визначення активності тубулярного лізосомного ензиму N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ), що має певні реноспецифічні властивості. Дітей, хворих на ГН з НС, ретроспективно з урахуванням результатів лікування було поділено на групи: група "а" — 50 хворих, у яких в результаті лікування діагностовано повну клініко-лабораторну ремісію; група "б" — 12 хворих — з частковою клініко-лабораторною ремісією; група "в" — 21 хворий, у яких ефект від лікування був відсутнім. Встановлено, що за результатами індивідуального аналізу у кожній групі окремо збільшення вихідних рівнів активності НАГ сечі вище за середнє значення контролю ($11,64 \pm 0,72$ мкмоль р-нітрофенолу/год/ммоль креатиніну) у 9–11 рази дозволяє прогнозувати, що патогенетична терапія буде ефективною, збільшення у 15–17 рази — частково ефективною, збільшення у 20 та більше рази — неефективною.

Отже, визначення активності НАГ у сечі дітей, хворих на ГН з НС, дозволить залежно від її кількісних величин, ще до початку лікувальних заходів, прогнозу-

вати ефективність впливу патогенетичної терапії на кінцевий результат лікування та, у випадках прогностично несприятливих варіантів захворювання, завчасно провести корекцію протоколу терапії. Метод є неінвазивним, точним, нескладним та досить інформативним.

ВМІСТ ХІМІЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ В ЕКОСИСТЕМІ ПРИКАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА ОРГАНІЗМ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

НЕЧИТАЙЛО Л. Я., ЕРСТЕНЮК Г. М.

*Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
e-mail: nechytailo7@mail.ru*

Метою роботи було: визначення рівня забруднення водоймищ і ґрунтів рівнинної зони Прикарпаття та дослідження впливу нітратної інтоксикації на організм експериментальних тварин.

Зразки ґрунтів і води брали згідно державних стандартів. Вміст мікроелементів визначали атомно-абсорбційним методом, концентрацію нітрат-іонів – потенціометричним. Експеримент проводили на білих щурах-самцях масою 180–200 г, інтоксикацію здійснювали в дозі $1/10 LD_{50}$ протягом 10-ти днів.

Проведені нами дослідження різних джерел питної води рівнинної зони Прикарпаття показали, що рівень кадмію перевищує гранично допустимі концентрації (ГДК) майже у 2,6 раза. Водночас вміст міді нижчий, ніж фізіологічна норма, яка за даними різних авторів коливається у межах (0,01–2,8 мг/л). Щодо вмісту нітратів, то нами відмічено зростання їх у воді з перевищенням ГДК в 1,3 раза. Паралельно з визначенням вмісту міді, цинку та кадмію у воді проводились дослідження їх рівня у ґрунтах. Зокрема, необхідно зазначити, що вміст міді та цинку у ґрунтах рівнинної зони становить 0,32 і 6,78 мг/кг відповідно, а рівень токсичного елемента кадмію – 0,14 мг/кг. Одержані дані вказують на те, що в ґрунтах рівнинної зони Прикарпаття рівень міді є нижчий за фізіологічну норму, а рівень цинку та кадмію не перевищує її. Таким чином, проведений аналіз питної води та ґрунтів засвідчує, що значна кількість населення рівнинної зони споживає воду з дефіцитним вмістом есенціального елемента міді і водночас з високим вмістом токсичного елемента кадмію та нітратів. Отримані дані послужили підґрунтям до вивчення впливу цих ксенобіотиків на організм експериментальних тварин. У даній роботі представлені результати вивчення впливу нітратів на рівень міді, цинку та кадмію в тканинах печінки. Результати проведених нами досліджень вказують на порушення рівня досліджуваних елементів у печінці за умов нітратної інтоксикації. Зокрема, найбільш суттєві зміни спостерігали на 14–28-у добу після завершення введення нітратів, що супроводжувались зростанням цинку та міді відповідно у 3–4,2 раза. У цьому випадку вміст кадмію зростав у 16 разів порівняно з інтактними тваринами.

Проведені дослідження показали, що у разі вживання питної води з підвищеним вмістом нітратів, спостерігається розвиток дисмікроелементозу.

Дефіцит чи надмірне надходження хімічних елементів та їх сполук може приводити до негативного впливу на живі організми, особливо небезпечним є нако-

пичення важких металів і нітратів. У зв'язку із цим, актуальним є дослідження рівня важких металів та нітратів у питній воді і ґрунтах Прикарпаття та їх вплив на живі організми.

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕНЬ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ФОСФАТАМИ

НИКОЛИН А. М., КРИВОВ'ЯЗ О. С., ЕРСТЕНЮК Г. М.

*Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
e-mail: andreynikolin@gmail.com.*

Фосфорна кислота та її солі широко використовуються в харчовій промисловості як емульгатори, регулятори кислотності, стабілізатори та вологоутримуючі агенти (Е338-Е470). Вплив даних сполук на метаболічні процеси в організмі людини не до кінця з'ясований, тому метою нашої роботи було: дослідити біохімічні показники експериментальних тварин за умов хронічної інтоксикації солями фосфорної кислоти.

Дослідження проведені на самках щурів лінії Wistar з початковою масою тіла 110–140 г, яких поділили на дві групи: контрольну та дослідну і утримували на стандартному раціоні віварію. Протягом 30-ти днів тварини дослідної групи з дистильованою водою отримували гідрогенфосфат натрію (Na_2HPO_4) з розрахунку $1/10 \text{ LD}_{50}$ на кг маси тіла, а контрольна група — дистильовану воду. Забір матеріалу здійснювали на 1-шу добу після завершення інтоксикації шляхом декапітації під легким ефірним наркозом, відповідно до норм біоетики. Для проведення біохімічних аналізів відбирали зразки крові та печінки, з подальшим приготуванням гемолізатів та гомогенатів. Концентрацію гемоглобіну визначали гемоглобінціанідним методом, гематологічні індекси за загальноприйнятими методиками, активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) — спектрофотометрично, концентрацію глюкози — глюкозооксидазним методом, вміст неорганічного фосфору ($\Phi_{\text{н}}$) — за реакцією із молібдатом амонію, піровиноградної кислоти (ПВК) — за реакцією з 2,4 — динітрофенілгідразином, протеїн — методом Лоурі.

Проведені дослідження показали порушення показників периферичної крові, вірогідне ($P < 0,005$) зниження концентрації гемоглобіну на фоні зростання гематокриту порівняно з контролем. Концентрація $\Phi_{\text{н}}$ у плазмі крові дослідних тварин була на рівні контрольних, а у гемолізатах еритроцитів (ЕР) та гомогенатах печінки зросла на 29 та 9% відповідно. Визначення показників вуглеводного обміну показало достовірне ($P < 0,001$) зменшення концентрації глюкози в плазмі крові та гемолізатах ЕР. Рівень ПВК в плазмі крові дослідних тварин зростає на 6,6%, а у гемолізатах та гомогенатах печінки знижується на 12 та 4,3% відповідно. Активність ЛДГ у плазмі крові підвищується неістотно, в гемолізатах ЕР та гомогенатах печінки вище на 9,5 і 4,5% порівняно з контролем.

Результати досліджень свідчать, що хронічна інтоксикація Na_2HPO_4 призводить до підвищення рівня фосфатів в еритроцитах і печінці, викликає порушення гематологічних індексів та вуглеводного обміну, що потребує детальнішого вивчення біохімічних механізмів виявлених змін.

ВПЛИВ КАРДІОТРОПНИХ ФІЗІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ СПОЛУК НА ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРЕОКИСЛЕННЯ У МІОКАРДІ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

НІЖЕНКОВСЬКА І. В.

*Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;
e-mail: Elena_www@ukr.net*

Функціонування про- та антиоксидантних систем міокарду за експериментальної серцевої недостатності у разі введення кардіотоксичного антибіотика рубоміцину на тлі кардіопротекторних фізіологічно-активних сполук раніше не досліджувалося і є актуальним питанням.

В умовах введення щурам з експериментальною СН суфану в тканинах міокарду і печінки спостерігається значно менше кінцевих продуктів ЛПО як при спонтанному (неініційованому прооксидантами), так і ферментативному (NADPH-залежному) ЛПО. Такі ж дослідження були проведені по вивченню впливу карбіцилу на оксидантно-прооксидантний гомеостаз міокарду і печінки. Результати дослідів вказують, що похідне урацилу – краун-ефір карбіцил, практично повністю попереджає накопичення в міокарді і печінці кінцевих продуктів переокислення, як у неініційованій, так і у ферментативній системах ЛПО. Одержано дані щодо ушкодження функціонування глутатіонової системи в умовах СН, визваного отруєнням рубоміцином. Зроблено порівняння показників глутатіонової АОС в міокарді щурів за умов СН та введення неглікозидних кардіотоніків (суфану і карбіцилу) з адреноміметиком добутаміном.

Згідно до одержаних результатів, рубоміцин, введений на фоні суфану, значно меншою мірою пошкоджує антиоксидантну систему глутатіону в міокарді. Так, вміст встановленого глутатіону (6-Sh) в серцевому м'язі під впливом суфану збільшується на 37% порівняно з показником у щурів, які отримували лише рубоміцин, а в печінці – на 42% за тих же умов експерименту. Рівень G-SH в міокарді щурів, які отримували карбіцил на фоні рубоміцину, на 37,5% більше, ніж у групі, що отримувала лише рубоміцин; активність глутатіон-пероксидази на 15% перевищувала таку у групі, що отримувала рубоміцин. Показано, що в печінці під впливом карбіцилу зростає вміст G-SH та активність глутатіонпероксидази. Крім того, спостерігається суттєва цитопротекторна дія суфану за умов СН у системі ліпоперекислення і глутатіонової АОС у головному мозку та селезінці щурів. Важливим наслідком активації ЛПО за умов активації вільнорадикальних пероксидних реакцій є зміна жирнокислотного складу мембранних ліпідів, обміну ТГ та холестеролу. Призначення карбіцилу тваринам із СН значно збільшує вміст в печінці пентадеканової кислоти (на 58,7%) порівняно з групою рубоміцин і зменшує кількість арахідонової кислоти (на 22,5%), що призводить до збільшення насиченості ліпідів гепатоцитів.

ОЦІНКА РІВНЯ СЕЧОВОЇ АКТИВНОСТІ ГАММА-ГЛУТАМІЛ-ТРАНСПЕПТИДАЗИ (ГГТ) У НИРКОВІЙ МИСЦІ ТА СЕЧОВОМУ МІХУРІ ЗА ОДНОБІЧНОГО ГІДРОНЕФРОЗУ У ДІТЕЙ

*НІКУЛІНА Г. Г., СЕРБІНА І. Є., СЕЙМІВСЬКИЙ Д. А.,
ПЕТЕРБУРГСЬКИЙ В. Ф.*

*ДУ «Інститут урології АМН України», Київ;
urolog@rql.net.ua*

Останнім часом у дітей відмічено підвищення частоти аномалій верхніх сечових шляхів, які призводять до гідротичної трансформації нирок (ГТН), тобто до гідронефрозу (ГН). Прогресування ГН небезпечно розвитком гіпоксії нирки, до якої найбільш чутливими є ензими епітелію каналців нефрону. Виявлення їх у сечі може свідчити про ураження нирок. Однак, у випадку патології однієї з нирок, оцінка її структурно-функціонального стану за аналізом сечі з сечового міхура (СМ) ускладнюється у зв'язку з наявністю протилежної здорової нирки.

Мета роботи — вивчення активності реноспецифічного ензиму ГГТ в сечі з СМ та з ниркової миски (НМ), відтікаючої від нирки з ГТН, як показника її ураження у 44 дітей з однобічним ГН. Зразки сечі отримували під час випорожнення СМ та в ході операції з НМ. Дослідження сечі 25 здорових дітей показали, що сечова активність ГГТ у нормі дорівнює $22,9 \pm 2,0$ (7,8–38,0) мкмоль/год/ммоль креатиніну. У хворих дітей рівень ГГТ в сечі з СМ в середньому становить $44,3 \pm 7,9$, що вище за норму ($P < 0,001$). Однак, за індивідуальними даними з екскреції ГГТ всі пацієнти були розподілені на 3 групи: з гіперферментурією $93,0 \pm 13,3$ (37% дітей), з нормоферментурією $20,8 \pm 1,5$ (41%) і гіпоферментурією $4,7 \pm 0,6$ (22%). Дослідження сечі, відтікаючої безпосередньо від хворої нирки з ГТН, показали, що рівень ГГТ-урії в НМ становив в середньому $60,8 \pm 6,6$, що більше норми ($P < 0,001$). Проте, за індивідуальними показниками в НМ, як і в сечі з СМ, у 50% дітей зареєстровано гіперферментурію ($104,2 \pm 8,8$), у 39% — нормоферментурію ($23,5 \pm 2,3$) та у 11% — гіпоферментурію ($5,6 \pm 0,5$), що, на нашу думку, відображає прогресування деструктивно-атрофічних процесів в ураженій нирці. Очевидно, що відповідні зміни екскреції ГГТ хворою ниркою в НМ впливають на величину її сумарної активності в СМ, що й було вище відмічено.

Отже, порушення уродинаміки та ішемія нирки у разі ГТН призводять спочатку до деструкції клітин каналця нефрону, показником якої є гіперферментурія, та до наступної їхньої атрофії, показником якої є поступове зниження екскреції ГГТ до гіпоферментурії.

Диференційна оцінка показників ГГТ у сечі з СМ у поєднанні з їхнім аналізом у сечі з НМ підвищують точність діагностики стану паренхіми нирки при однобічному ГН у дітей.

**ПОРУШЕННЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ
РІВНОВАГИ, СПЕКТРА ФОСФОЛІПІДІВ ТА АКТИВНОСТІ
β-ГАЛАКТОЗИДАЗИ В КОРКОВОМУ ШАРІ НИРКИ КРОЛИКА
ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ**

*НІКУЛІНА Г. Г., ПИРОГОВ В. О., МИГАЛЬ Л. Я.,
СЕРБІНА І. Є., НІКІТАЄВ С. В.*

*ДУ “Інститут урології АМН України”, Київ;
e-mail: urolog@rql.net.ua*

Відомо, що гіпоксія може ініціювати зміни у клітинних мембранах та порушення активності пов'язаних з ними ензимів. Мета роботи — вивчити вплив гіпоксії на розвиток мембранних процесів у нирках в експерименті. В I-й серії дослідів у 10 кролів хірургічним методом під гексаналовим наркозом відтворювали гостру ішемію нирки шляхом перетину ниркової артерії впродовж 120 хв. В II-й серії дослідів у 6 кролів моделювали хронічну гіпоксію шляхом перев'язки лігатурою верхнього полюсу функціонуючої нирки впродовж 1–3 місяців. У гомогенаті коркового шару нирки вивчали активність пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) за вмістом малонового діальдегіду (МДА), стан антиоксидантної системи (АОС) — за активністю супероксиддисмутази (СОД) та за вмістом окисної форми NAD, спектр фосфоліпідів (ФЛ) та активність β-галактозидази (β-ГАЛ), локалізованої в каналцях нефрону. У нормі в корковому шарі нирки кролика рівень МДА складає 179 ± 20 нмоль/г, NAD — $0,28 \pm 0,04$ мкмоль/г та активність СОД — 175 ± 72 у.о./г/10 хв; у спектрі ФЛ виявлені фракції фосфатидної кислоти (ФК) — $11,1 \pm 2,0\%$, фосфатидилхоліну (ФХ) — $25,7 \pm 1\%$, лізоформи ФХ (ЛФХ) — $9,3 \pm 1,0\%$, сфінгомієліну (СФ) — $22,2 \pm 2,9\%$, фосфатидилсерину (ФС) — $8,5 \pm 1\%$, фосфатидилетаноламіну (ФЕ) — $23,3 \pm 2,7\%$. В I-й серії дослідів вже на 60-й хв гострої гіпоксії виявлено збільшення вмісту МДА на 54% до 276 ± 35 та активності СОД на 178% до 488 ± 81 і водночас зменшення вмісту NAD на 57% до $0,12 \pm 0,02$ проти норми ($P < 0,02-0,001$). В спектрі ФЛ виявлено зменшення в 2 рази фракцій ФХ, ФЕ, ФС відповідно до $19,2 \pm 2\%$, $12,2 \pm 3\%$, $4,3 \pm 1,1\%$, і навпаки збільшення ЛФХ в 3 рази до $28,9 \pm 7,5\%$ ($P < 0,05-0,01$). У II-й серії дослідів встановлено зниження рівня β-ГАЛ до $0,16 \pm 0,03$ мкмоль/год/мг протеїну проти $0,24 \pm 0,03$ в нормі ($P < 0,01$).

Таким чином, на ранніх стадіях гіпоксії в корковій тканині нирки розвивається порушення біомембран в результаті активації ПОЛ, дисбалансу окремих ланок АОС та надлишку мембранотоксичного МДА, що призводить до змін в складі ФЛ, а саме до зменшення ФХ, ФЕ і ФС та збільшення ЛФХ. У разі тривалого функціонування нирки в умовах хронічної гіпоксії мембранна патологія веде до ураження каналців нефрону, що проявляється зниженням активності реноспецифічної β-ГАЛ у корковому шарі нирки.

ПОРУШЕННЯ МІНЕРАЛЬНОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНІВ У ДІТЕЙ ВНАСЛІДОК РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ

*ОМЕЛЬЧЕНКО Л. І., НІКОЛАЄНКО В. Б., ДУДКА І. В.,
ЛЮДВІК Т. А., НИКИФОРОВА Т. М., АНТОНЕНКО Л. В.*

*ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України», Київ;
e-mail: vsekipag@ukr.net*

Проблема остеопенічного синдрому і пов'язаних з ним порушень кальцій-фосфорного обміну в педіатрії актуальна та багатогранна і потребує об'єднання зусиль для вирішення питань сучасної діагностики і терапії цього синдрому.

Метою даного дослідження було вдосконалення профілактики та терапевтичної корекції порушень мінерального і ліпідного обмінів при РА у дітей.

За даними досліджень, що проводились нами з 1999 р. у дітей хворих на ревматоїдний артрит (РА), вже на ранніх стадіях аутоімунного запального процесу мають місце зміни в системі кальційрегулюючих гормонів і вітаміну D₃ в організмі, які проявляються кальційпенією, остеопенією і остеопорозом. У всіх хворих дітей було виявлено зниження вмісту в крові 25-гідроксихолекальциферолу (на 25%), підвищений рівень паратгормону (на 18%), а за суставно-вісцеральної форми і кальцитоніну (на 9%).

У більшості пацієнтів виявлені зміни в ліпідному складі мембран еритроцитів — збільшення вмісту холестеролу (на 7%) і зниження рівня сумарних фосfolіпідів (на 14%), що може бути причиною порушення трансмембранного транспорту, в тому числі іонів кальцію. Однією з причин патологічного ремоделювання кісткової тканини, розвитку остеопорозу є низький рівень 25-гідроксихолекальциферолу у хворих на РА дітей.

Тривале застосування глюкокортикоїдів (ГК) у лікуванні хворих на РА дітей призводить до підвищення вмісту в крові прозапального цитокіну, фактору некрозу пухлини (ФНП) та його розчинних рецепторів, що стимулює процеси апоптозу (за даними дослідження клітин біоптату шкіри). Призначення пульс-терапії та високих початкових доз ГК супроводжується більш глибокими порушеннями кальцієвого обміну з ускладненнями з боку кісткової системи (компресійні переломи хребців, остеонекроз голівки стегнової кістки), що корелює з сумарною дозою ГК, тривалістю їхнього застосування, формою препарату.

Для корекції порушень кальцій-фосфорного та ліпідного обмінів у разі РА у дітей застосовували препарати вітаміну D₃, кальцію, оротату калію, омега-3 поліненасичених жирних кислот. Відзначено стабілізацію змін з боку кісткової тканини, нормалізацію показників мінерального та ліпідного обмінів, підвищення забезпеченості організму дитини вітаміном D₃.

Одержаний терапевтичний ефект утримувався протягом трьох місяців.

ЗАХИСНІ ВЛАСТИВОСТІ СЛИЗОВОГО ГЕЛЮ ШЛУНКА ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ У СТРЕСОСТІЙКИХ ТА СТРЕСОНЕСТІЙКИХ ЩУРІВ

ОМЕЛЬЧЕНКО О. Є.

*Вищий державний навчальний заклад України «Українська
медична стоматологічна академія», Полтава;
e-mail: bcp-r@i.ua*

Мета дослідження — оцінити захисні властивості шлункового слизу за умов гострого стресу (ГС) у стресостійких та стресонестійких щурів. Експерименти виконані на 36 статевозрілих щурах-самцях Вістар масою 170–220 г. ГС моделювали за методом Г. Сельє (1960). Типологічні особливості тварин визначали у нейроетологічному тесті “відкрите поле” із застосуванням факторно-аналітичного методу, за допомогою якого щурів розділили на стресостійких та стресонестійких (Майоров О. Ю., 1988). Евтаназію тварин здійснювали під гексеналовим наркозом через 2 год після відтворення стресу. Ступінь виразкового ушкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) оцінювали за методом Пшенникової М.Г. В гомогенаті СОШ визначали рівень окислювально модифікованих протеїнів (ОМП) (Дубинина Е. Е. и др., 1995). Кислотоутворюючу функцію СОШ оцінювали методом рН-метрії шлункового вмісту (розведення 1:10). У СОШ за допомогою гістохімічної реакції ШИК+Хейл визначали нейтральні та кислі глікозаміноглікани (Пирс Э., 1962). Одержані результати обробляли з використанням критерію *t*-Стюдента. Нами встановлено, що гострий стрес гальмує секрецію хлористоводневої кислоти: кислотність шлункового вмісту достовірно знизилась в 1,5–1,6 раза порівняно з контролем ($P < 0,05$). Деякі дослідники агресивному впливу хлористоводневої кислоти відводять ключову роль у розвитку виразок шлунка. За нашими даними, у слизовому гелі шлунка за умов ГС в 1,3–1,4 раза зростає рівень ОМП ($P < 0,05$), що, безсумнівно, порушує структуру його макромолекулярних агрегатів, утворених глікопротеїнами та протеогліканами. Переконливим аргументом на користь ослаблення захисної функції СОШ при ГС є гістохімічні дослідження. У стресонестійких щурів з більш вираженою тяжкістю стресорних виразок, спостерігали потоншення шару ШИК-позитивного муцину та наявність окремих десквамованих епітеліоцитів СОШ порівняно з контрольною групою тварин. У щурів стресостійкого типу за цих умов поряд з менш вираженим впливом на слизовий шар, спостерігалась значно менша частота, множинність і площа виразок шлунка ($P < 0,05$).

Таким чином, ГС ослаблює захисні властивості слизового гелю шлунка, ступінь якого залежить від стресостійкості організму.

ВОЗМОЖНОСТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

¹ОЧЕНАШКО О. В., ²НИКИТЧЕНКО Ю. В., ¹ПЕТРЕНКО А. Ю.

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;

²НИИ биологии ХНУ им. В. Н. Каразина, Украина;

e-mail: ochenashko@ukr.net

Известно, что формирование хронического гепатита и цирроза печени (ЦП) сопровождается активацией свободнорадикальных процессов и/или снижением активности антиоксидантной системы защиты. Ранее в нашей лаборатории было установлено, что криоконсервированные клетки фетальной печени (КФП) нормализуют состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса организма животных с рядом экспериментальных патологий. В связи с этим изучали особенности состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса у крыс с экспериментальным ЦП на фоне введения КФП человека.

Клетки для трансплантации выделяли из фетусов человека 8–10 нед. гестации в соответствии с требованиями биоэтики и криоконсервировали. Цирроз печени формировали у крыс путем длительного введения малых доз СС14. КФП (10 млн. клеток) вводили в селезенку животных сформированной моделью. Контрольная группа получала эквивалентный объем среды. Животных выводили из эксперимента декапитацией. В сыворотке крови и постмитохондриальной фракции печени определяли содержание гидроперекисей липидов, каталазную, глутатионпероксидазную, глутатионредуктазную и общую антиокислительную активность.

Установлено, что через 4 нед. после трансплантации КФП у животных с ЦП уровень продуктов ПОЛ в печени и крови достоверно уменьшался по сравнению с контрольной группой. Такие изменения сопровождались значимым увеличением активности изученных антиоксидантных ферментов печени и общей антиокислительной активности крови. Следует отметить, что полного восстановления всех изучаемых параметров в этот период не происходило.

Результаты работы демонстрируют, что основная направленность действия КФП у животных с ЦП совпадает с эффектами, обнаруженными нами ранее на других экспериментальных моделях. Это позволяет рассматривать клеточную терапию как универсальный метод коррекции нарушений регуляции свободнорадикальных процессов при экспериментальных патологиях разного генеза.

Работа выполнена при поддержке гранта Украинского научно-технического центра (проект № 4419).

КРИТЕРІЇ ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ОРИГІНАЛЬНОГО ДЕРМАТОЛОГІЧНОГО ЗАСОБУ ФЕНСУКЦИНАЛУ

*ПАЛАГІНА І. А., КУДРЯ М. Я., УСТЕНКО Н. В.,
ЖУРАКОВСЬКА М. В., ПАВЛЕНКО Т. О.*

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології
ім. В. Я. Данилевського АМН України», Харків;
e-mail: lab-tox@ukr.net*

Для лікування діабетичних виразкових уражень шкіри в нашому інституті розроблено оригінальний дерматологічний засіб у вигляді 1% м'якої лікарської форми фенсукциналу (МЛФФц) – похідного бурштинової кислоти, який натепер проходить доклінічні випробування щодо ефективності та безпечності його застосування. З метою визначення біохімічних критеріїв потенційного ризику токсичної дії МЛФФц досліджували показники стану вуглеводного, ліпідного та протеїнового обміну, процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) та системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Експерименти проводили на статевозрілих щурах лінії Вістар обох статей в умовах 3-місячних аплікацій МЛФФц у дозі 1000 мг/кг маси тіла. Серед показників ПОЛ та АОЗ визначали рівень дієнових кон'югатів (ДК), сполук, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБКАС), відновленого глутатіону (ВГ), церулоплазміну, активність каталази в гомогенаті печінки, сироватці та цільній крові.

Дослідження показали, у разі хронічних аплікацій МЛФФц у самиць порушується баланс системи ПОЛ-АОЗ у бік активації процесів ПОЛ з підвищенням рівня первинних (ДК) та вторинних метаболітів ПОЛ (ТБКАС) у тканині печінки, а також зниженням вмісту ВГ у сироватці крові, ймовірно, внаслідок порушення його синтезу та використання для знешкодження токсичних продуктів ПОЛ. У самців після 1 місяця аплікацій МЛФФц відбувалося зниження рівня ВГ у сироватці крові при відсутності змін інтенсивності ПОЛ, а після 3 місяців – навпаки, підвищення даного показника стану АОЗ паралельно зі зниженням у гомогенаті печінки вмісту ДК та ТБКАС, що, можливо, пов'язано з активацією адаптаційних механізмів. У період після дії (2 тижні) прооксидантно-антиоксидантний баланс в організмі щурів обох статей стабілізується. Показники стану вуглеводного, ліпідного та протеїнового обміну у щурів за даних умов експозиції МЛФФц суттєво не змінюються.

Проведені дослідження дали змогу дійти наступних висновків: 1. Тривалий вплив МЛФФц у самиць призводить до підвищення вмісту ДК та ТБКАС у печінці та зниження вмісту глутатіону в сироватці, а у самців – змінюється рівень ВГ. 2. Активацію ПОЛ та пригнічення АОЗ оцінено як критерії можливого розвитку хронічної інтоксикації МЛФФц.

ВИВЧЕННЯ ЗМІН ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ МІЄЛОЇДНОЮ ЛЕЙКЕМІЄЮ

ПАНІШИНА Н. Г., ЮРЖЕНКО Н. М., БРЮЗГІНА Т. С.

*Національний медичний університет
ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;
e-mail: natali091275@yandex.ua*

Відомо, що розвиток більшості патологічних станів запального та деструктивного характеру супроводжується порушенням систем антиоксидантного захисту, надмірною активацією процесів вільнорадикального окислення ліпідів з формуванням оксидативного стресу.

Вивчення процесів ПОЛ представляє необхідну інформацію, яка дозволяє оцінити генез захворювання та вибирати засоби ефективної фармакологічної корекції патологічного процесу.

Метою даної роботи є вивчення процесів ліпопероксидації в еритроцитах крові хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ).

Матеріалом для досліджень були еритроцити крові 15 пацієнтів з ХМЛ. Діагноз встановлювали на основі клінічних, лабораторних та цитогенетично-молекулярних методів дослідження. Як контроль були використані дані практично здорових людей тієї самої вікової групи. Загальну антиоксидантну активність (АОА) в еритроцитах крові вивчали з застосуванням ліпопротейдів жовтка *in vitro*. Спектр жирних кислот (ЖК) ліпідів крові визначали методом газової хроматографії.

Як показали результати проведених нами досліджень загальна АОА еритроцитів крові у хворих з ХМЛ достовірно знизилась у порівнянні зі здоровими особами. Так, у осіб у період ремісії цей показник становить $51,9 \pm 2,6\%$, а у разі загострення процесу АОА — $45,7 \pm 2,3\%$, тоді як у контрольній групі — $72,3 \pm 1,68\%$. У пацієнтів з ХМЛ у фазі прогресії загальна АОА на 20% нижча, ніж у пацієнтів у період ремісії. Зниження загальної антиокислювальної активності в еритроцитах крові хворих на ХМЛ може свідчити про зрив механізмів компенсації вільнорадикальних процесів. Аналіз результатів газо-хроматографічного дослідження показав, що в ліпідах еритроцитів крові пацієнтів з ХМЛ є достовірні зміни співвідношення насичених та ненасичених жирних кислот. Сума насичених ЖК зростає на 25%, сума ненасичених ЖК зменшується на 34% відносно групи здорових осіб за рахунок збільшення частки пальмітинової кислоти та зменшення частки арахідонової кислоти, що вказує на надмірну активацію процесів ліпопероксидації в еритроцитах крові пацієнтів з ХМЛ.

Одержані дані дозволяють зробити висновок про те, що активація ліпідної пероксидації у пацієнтів з ХМЛ на різних етапах спостереження призводить до порушення метаболізму насичених та ненасичених ЖК і може бути однією із причин розвитку патологічного стану.

**ANTINEOPLASTIC ACTIVITY OF NOVEL
4-THIAZOLIDONE COMPOUNDS LES-3120, LES-3166
AND LES-3372: *IN VITRO* STUDY**

¹PANCHUK R. R., ²CHUMAK V. V., ²KRUPAK V. I.,
³HAVRYLYUK D. Ya., ³LESYK R. B., ^{1,2}STOIK A. R. S.

¹*Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;*

²*Ivan Franko Lviv National University, Ukraine;*

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

e-mail: rpanchuk@ukr.net

Novel thiazolidinone derivatives Les-3120, Les-3166 and Les-3372 were recently synthesized at Danylo Halytsky Lviv National Medical University. They were capable of inhibiting growth of several carcinoma and leukemia cell lines. Les-3120 and Les-3166 compounds were tested at the National Cancer Institute (USA) towards NCI60 human tumor cell lines and showed growth inhibition action in the anticancer screen. However, the molecular mechanisms of cell death induction by these drugs remain unknown. It is also not known if they are capable of overcoming multi-drug resistance in tumor cells. We studied the action of Les-3120, Les-3166 and Les-3372 towards human (Jurkat, CCRF-CEM lines) and murine (L1210 line) leukemia cells, as well as human carcinoma cells of MCF-7 and MDA-MB-231 lines. Trypan blue, DAPI staining, DNA electrophoresis in agarose gel, and Western-blot analysis were performed in order to study the molecular mechanisms of cytotoxic activity of 4-thiazolidones. IC₅₀ of tested compounds varied in range of 10⁻⁵-10⁻⁶ M, and in several cases the anti-neoplastic effect of these 4-thiazolidones was comparable with such effect of doxorubicin and cisplatin. DNA electrophoresis in agarose gel of Jurkat T cells treated with Les-3120, 3166 and 3372 has shown little signs of DNA fragmentation, in contrast to positive control (doxorubicin, 2 µg/ml). While the combined Annexin V/Propidium Iodide staining showed that these compounds induce primary apoptosis in Jurkat T cells, in contrast to doxorubicin (2·10⁻⁶ M), which induced secondary necrosis. These results were confirmed by Western-blot analysis. Les-3120 and Les-3166 were shown to induce activation of caspases-2,3,7,8 and subsequent cleavage of PARP-1 and DFF45 by these proteins. Les-3372 was also studied on its ability to overcome multi-drug resistance in tumor cells. Murine leukemia cells of L1210 line, sensitive and resistant to cisplatin action (L1210/S and L1210/R, respectively) were used. Since IC₅₀ of Les-3372 (10⁻⁶ M) did not differ significantly in both cell lines, we suggest its capability to overcome resistance of L1210/R leukemia cells to cisplatin action.

ВПЛИВ ЛІПОСОМНИХ ФОРМ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА НА АНТИПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ РАКОВИХ КЛІТИН

¹ПАРАМОНОВА К. В., ²ЄГОРОВА Д. Є., ³КЛЮЧІВСЬКА О. Ю.,
³СТОЙКА Р. С., ¹ШТЕМЕНКО Н. І.

¹Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара, Україна;

²Український державний хіміко-технологічний університет,
Дніпропетровськ, Україна;

³Інститут клітинної біології НАН, Львів, Україна;
e-mail: katya.paramonowa@yandex.ru

Раніше, на видоспецифічній карциномі щурів було показано ефективність реній-платинової системи (Re-Pt), що полягала у введенні одноразово розчину цис-платину та кластерної сполуки ренію за схемою антиоксидантної терапії [Dalton Trans, 2009]. Подальше впровадження перспективних кластерних сполук ренію в онкологічну практику потребує вивчення впливу сполук ренію окремо та всієї системи Re-Pt на життєздатність та проліферативну активність ракових клітин людини. Отже, метою роботи було оцінити антипроліферативну активність розчинів та ліпосомних форм цис-платину, кластерної сполуки ренію та системи Re-Pt на проліферативну активність ракових клітин людини.

Вивчали кластерну сполуку ренію з органічними лігандами $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_4$ (Re-isob) та цис-платин (cis-Pt). Дослідження проводили на клітинах лінії СЕМ-Т4 лейкоцитних лімфоцитах людини. Для оцінки життєздатності клітин здійснювали підрахунок живих і мертвих клітин.

Використовуючи розчини системи та її компонентів, вдалося показати, що вже на першу добу відбувалось гальмування системою cis-Pt+Re-isob проліферативної активності у концентраціях 10^{-8} та 10^{-7} моль/л відповідно на 65,9 та 70,4%. На другу добу дія системи у ліпосомній формі виявилася набагато ефективнішою, ніж у розчинній. У концентрації 10^{-8} моль/л кількість клітин під дією системи cis-Pt+Re-isob у ліпосомній формі знижувалась на 85%, тоді як у разі концентрації 10^{-7} моль/л відбувалось 100% гальмування життєздатності клітин. Дія окремих компонентів системи, як Re-isob, так і cis-Pt, була менш ефективною.

Отже, за дії на клітини лейкоцитної людини СЕМ-Т4 ефективними антипроліферантами були як сполуки ренію і цис-платину, так і система cis-Pt+Re-isob; найбільш ефективним виявилось застосування системи cis-Pt+Re-isob у ліпосомній формі. Ліпосомні форми мають перевагу у порівнянні з розчинами препаратів. Показано некротичний та апоптотичний механізми загибелі клітин під дією компонентів і системи cis-Pt+Re-isob. Апоптотичний механізм загибелі максимально реалізується завдяки застосуванню системи у розчині.

РЕГУЛЯТОРНА ДІЯ ВІТАМІНУ D₃ НА ОБМІН СФІНГОМІЄЛІНУ В ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ

ПАСІЧНА Е. П., ДОНЧЕНКО Г. В., МОРОЗОВА Р. П.

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

Для багатьох країн світу розсіяний склероз (РС) становить одну з найважливіших проблем сучасної медицини та суспільства, оскільки, незважаючи на інтенсивні дослідження в усьому світі, механізми його виникнення та розвитку залишаються нез'ясованими. Існують дані про те, що вітамін D₃ здатен знижувати гіперпродукцію NO і стимулювати в клітинах синтез глутатіону, справляючи антиоксидантну дію, а також знижувати рівень токсичних метаболітів сфінгомієліну, попереджаючи апоптоз деяких типів клітин, що може бути важливим для лікування РС. Добре відомими є також антиоксидантні й мембраностабілізуючі властивості α -токоферолу (вітаміну Е). Тому метою наших досліджень було дослідити вплив вітаміну D₃ окремо та у суміші з вітаміном Е на розвиток оксидативного стресу і порушення метаболізму сфінгомієліну (СМ) у мозку щурів за умов експериментального аутоімунного енцефаломієліту (ЕАЕ), що є моделлю РС. Ці дослідження можуть мати значення для подальшого з'ясування біохімічних основ патогенезу захворювання й для розробки нових ефективних методів лікування. Для цього визначали вміст вільних SH-груп, ТБК-активних продуктів, активність глутатіонпероксидази і каталази у мозку, а також вміст холестеролу (Х), сфінгомієліну, цераміду та вільного сфінгозину (Сф) у мозку та клітинах глії щурів.

Тварин імунізували за допомогою гомологічного мієліну і повного ад'юванта Фрейнда (Sigma). Контролем були інтактні тварини, яким вводили відповідну кількість фізрозчину. З 8-ої доби експерименту одна група імунізованих тварин отримувала перорально кожного дня протягом 13 діб вітамін D₃ у дозі 5 мкг на кг ваги, друга – вітамін D₃ у суміші з вітаміном Е (12 мг). Дослідження проводили на 21-у добу після імунізації.

Виявлено, що застосування вітаміну D₃ як окремо, так і з вітаміном Е, призводить до збільшення вмісту вільних SH-груп у мозку хворих тварин за наявності симптомів, позитивно впливає на стан пероксидного окислення ліпідів у мозку і антиоксидантної системи, а також сприяє достовірному зниженню за умов ЕАЕ вмісту сфінгозину та молярного співвідношення холестерол/сфінгомієлін у тканині мозку і цераміду у гліальній клітинній фракції мозку, причому суміш вітамінів дещо ефективніша. Одержані дані можуть свідчити про регуляторну дію вітаміну D₃ на вміст глутатіону, обмін сфінгомієліну, активність пероксидних та антиоксидантних процесів у мозку за умов ЕАЕ, що вказує на перспективність його використання для лікування як РС, так й інших аутоімунних захворювань.

ACTIVATED PROTEIN C PROMOTES FIBRINOLYSIS THROUGH PAI-1 INACTIVATION THAT CAN PROVOKE PROTEIN C DEFICIENCY IN BLOOD PLASMA

PATALAKH I. I.

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

To test the hypothesis that is not the anticoagulant function of the activated protein C but neutralization of PAI-1 enhances fibrinolysis after blood clot formation.

After rapid (5-10 c) whole blood clotting with thrombin (1 NIH/ml) we measured the rate of clot degradation in the presence of tissue plasminogen activator (t-PA, 8 and 16 U/ml) or t-PA together with activated protein C (APC, 1 pmol/ml). The measurement of autologous plasma fibrin clot lysis in similar conditions was also made. Functional activities of t-PA and PAI-1, concentrations of t-PA, PAI-1, complex t-PA/PAI-1 and proenzyme PC were measured during 3 hours of clot degradation. In all samples where APC was added clots lysed more rapidly than in samples without APC and decreasing of complex t-PA/PAI-1 concentration ($25 \pm 10\%$) was found during the first hour. Initial levels of measured proteins in blood samples influenced the effectiveness of clot degradation. APC addition was accompanied by PAI-1 activity lowering from 10% to 100% for individual donors. APC did not influence fibrin clot lysis in parallel experiments after autologous plasma fibrinogen polymerization.

Previously we showed that PC level decreased in blood of patients with cardiological failure and atherosclerosis but t-PA and PAI-1 activity were considerably above the normal value, and fibrinogen level did not increase. The enhancement of fibrinolysis during blood clots formation is a well-known phenomenon. The rate of clot degradation mainly depends on the equilibrium between t-PA and PAI-1. t-PA is a main plasminogen activator in the vasculature which determinates the molecular mechanism of fibrinolysis. PAI-1 is the plasminogen activator inhibitor type 1 which forms a stable non-reversible complex with t-PA and prevents its association with fibrin in clot structure. Large amounts of PAI-1 are secreted by platelets which aggregate and interact with fibrin forming fibrin-platelet clot. The question is how the simultaneous presence of active t-PA and PAI-1 in clot leads to clot degradation while PAI-1 concentration in this conditions is 100-1000 times higher as t-PA one? We demonstrated that the rapid inhibition of complex t-PA/PAI-1 formation in presence of APC may increase the effective concentration of t-PA in fibrin surface and provide the acceleration of fibrinolysis. Results of experiments in vitro and patient examination allow us to conclude that the property of APC to neutralize PAI-1 activity has a latent possibility to induce transient shortage of protein C in blood after APC is released from activated platelets or after acute inflammation response. Taking into account that APC is a anticoagulant enzyme that suppresses coagulation by inactivating FVa and FVIIIa, its transient deficiency might play the fatal role during blood thrombi formation.

ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ АДЕНОЗИНУ У ЩУРІВ ІЗ ЦИРОЗОМ ПЕЧІНКИ: ЗВ'ЯЗОК З НИРКОВОЮ ДИСФУНКЦІЄЮ

ПЕНТЮК Н. О.

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

Декомпенсація цирозу печінки характеризується прогресуючою нирковою дисфункцією, яка виникає на тлі глибоких розладів гемодинаміки (мезентеріальна та системна вазодилатація, компенсаторна ниркова вазоконстрикція). Не виключено, що до формування ниркової дисфункції при цирозі причетний аденозин, який, як відомо, чинить дилатуючу дію щодо більшості судин, в т. ч. мезентеріальних, та констрикторну дію щодо судин нирок. Нещодавно було показано, що при цирозі має місце накопичення аденозину, однак причини цього явища нез'ясовані.

Метою роботи було дослідити зв'язок між порушенням обміну аденозину та формуванням ниркової дисфункції у щурів з цирозом печінки. Модель декомпенсованого цирозу була створена у 17 білих щурів самців шляхом інтрагастрального введення CCl_4 протягом 8 тижнів (сумарна доза 14,4 мл 40% р-ну). 14 щурів контрольної групи отримували відповідну кількість олії. Визначали швидкість клубочкової фільтрації (КФ), екскрецію натрію та аденозину з сечею, активність аденозиндезамінази, апірази, 5'-нуклеотидази, S-аденозилгомоцистеїнгідролази в гомогенаті печінки і нирок.

Встановлено, що у тварин з цирозом печінки має місце значне зниження швидкості КФ (в 2,5 раза) та добової екскреції натрію з сечею (на 37%), порівняно з контролем, та суттєве (в 3,3 раза) збільшення екскреції аденозину з сечею. Виявилось, що причиною накопичення аденозину є як його посилене утворення, так і гальмування деградації. Активність S-аденозилгомоцистеїнгідролази та 5'-нуклеотидази в печінці тварин з цирозом, відповідно, становила $5,71 \pm 0,48$ та $5,84 \pm 0,35$ нмоль/хв на 1 мг протеїну і була на 103 та 28% вищою, ніж у контролі. Водночас активність аденозиндезамінази дорівнювала $139 \pm 7,55$ нмоль/хв на 1 мг протеїну і була на 43% нижчою, ніж у контролі. Подібні зміни активності ензимів реєстрували і в нирках. Більш важкі порушення обміну аденозину та функції нирок виявляли у тварин з цирозом та асцитом. Швидкість КФ та натрійурез обернено корелювали з екскрецією аденозину з сечею, активністю 5'-нуклеотидази, S-аденозилгомоцистеїнгідролази та прямо корелювали з активністю аденозиндезамінази в печінці і нирках ($P < 0,05$).

Таким чином, формування цирозу печінки у щурів супроводжується накопиченням аденозину, що є наслідком зростання активності ензимів S-аденозилгомоцистеїнгідролази і 5'-нуклеотидази та зниження активності аденозиндезамінази в печінці та нирках. Накопичення аденозину асоціюється з формуванням асциту та ниркової дисфункції.

ВПЛИВ ПРОГЕСТЕРОНУ ТА ЕСТРАДІОЛУ НА 2D- І 3D-КУЛЬТУРИ КЛІТИН РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

ПЕРЕПЕЛИЦИНА О. М., ГЕРГЕЛЮК Т. С.

Відділення біотехнічних проблем діагностики Інституту
кріобіології та кріомедицини НАН України, Київ;
e-mail: vodolyb@ukr.net

Молочна залоза є органом-мішенню для статевих гормонів і зміна чутливості пухлин тканини до прогестерону і естрадіолу може впливати на швидкість росту новоутворення. Розуміння процесів та створення адекватних моделей пухлиноутворення може сприяти розвитку терапії онкологічних захворювань. Однією з найбільш відповідних моделей пухлинного росту *in vitro* вважають багатоклітинні мікросфероїди (3D), які поєднують у собі багато властивостей солідних пухлин на їхній первинній аваскулярній стадії розвитку. Вони використовуються як органотипові моделі нормальних та пухлинних тканин.

Мета дослідження — дослідити та порівняти розвиток клітин раку молочної залози під впливом прогестерону та естрадіолу в 2D- та 3D-культурах.

В роботі використовували експериментальну модельну систему — лінію клітин аденокарциноми молочної залози — MCF-7. До 2D- та 3D-культур додавали різні концентрації гормонів (прогестерону (ПР) та естрадіолу (ЕС)) і оцінювали проліферативний потенціал, морфологію клітин та експресію естрогенового рецептора. Проліферативну активність клітин 2D- та 3D-культур визначали за допомогою МТТ-тесту.

Кількість живих клітин у сфероїдах підраховували після фарбування трипановим синім. Цитологічне дослідження проводили за допомогою методу Ван-Гізона. Вплив гормонів на експресію естрогенових рецепторів(ЕР) та p53 визначали імуноцитохімічно.

Встановлено, що в 2D-культурі проліфераційний потенціал клітин збільшується у ході підвищення концентрації ЕС (на 28% при $C[ЕС]=0,875 \cdot 10^{-6}$ г/л, $P \leq 0,05$) та зменшується у разі підвищення концентрації ПР (на 66% при $C[ПР]=1 \cdot 10^{-6}$ г/л, $P \leq 0,05$). Мікрофотографії показують, що в 3D-культурі ЕС впливає на збільшення розмірів сфероїдів, а в 2D-культурі — на збільшення кількості клітин на одиницю площі; в 3D-культурі під дією ПР збільшується кількість сфероїдів, але не розміри, а в 2D-культурі не збільшується кількість клітин, але змінюється їхня морфологія.

Показано, що у 2D- та 3D-культурі існує тенденція до збільшення кількості живих клітин під впливом ЕС та її зменшення під впливом ПР. Але 2D-культура є більш чутливою, ніж 3D-культура до цих гормонів. ЕС та ПР впливають на експресію естрогенового рецептора та p53.

**АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ
И ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ АМИНОТРАНСФЕРАЗ
ЖКТ КРЫС В РЕАЛИЗАЦИИ ЗАЩИТНЫХ ЭФФЕКТОВ
L-ГЛУТАМАТА, L- АЛАНИНА И ВИТАМИННО-
КОЭНЗИМНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПРИ ГИПОКСИИ
ЗАМКНУТОГО ПРОСТРАНСТВА**

ПЕТРОСЯН А. Л.

*Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;
e-mail: armineshkabiochim@rambler.ru*

Аминокислоты после их переаминирования включаются в основной энергетический цикл митохондрий и поэтому изучение активности аминотрансфераз желудочно-кишечного тракта крыс при гипоксии замкнутого пространства является актуальным. Аспаратаминотрансфераза обеспечивает быстрое трансаминазное окисление в ЦТК, а роль аланинаминотрансферазы при ГЗП еще предстоит оценить. Кроме того, известны данные о структурно-функциональных взаимосвязях аминотрансфераз и ферментов ЦТК, образующих надмолекулярные структуры в митохондриях.

Цель работы — определение общей активности АЛТ и АСТ, их распределение между митохондриями и цитоплазмой выделенных из слизистой двенадцатиперстной кишки, действие инъекций L-аланина и L-глутамата, а также их сочетание с витаминно-коферментным комплексом — пентапирувит.

Крыс брали в опыт через 20 мин и в момент наступления агональных судорог (35–45 мин). Активность АЛТ и АСТ определяли по стандартной методике Л. М. Осадчей.

Показано, что большая часть аспаратаминотрансферазной и аланинаминотрансферазной активности в слизистой двенадцатиперстной кишки крыс находится в митохондриальной фракции, а остальная часть обнаруживается в цитоплазматической. При действии факторов замкнутого пространства активность цитоплазматической АСТ и АЛТ в агональном состоянии не изменяется, а в митохондриях — увеличивается. При предварительной инъекции L-глутамата, L-аланина и сочетании этих аминокислот с пентапирувитом наблюдается увеличение активности АСТ и АЛТ как в цитоплазматической, так и в митохондриальной фракциях, по сравнению с крысами, которым при ГЗП инъецировали соответствующий объем физиологического раствора.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что АЛТ и АСТ взаимодействуют с дегидрогеназами ЦТК в пищеварительной системе. АЛТ и АСТ обеспечивают инъеклируемые совместно с витаминно-коэнзимным комплексом — пентапирувитом, антигипоксические эффекты L-аланина и L-глутамата, активирующие КГДК и ПДК в митохондриях.

NEW APPROACH FOR CORRECTION OF ISCHEMIC LESIONS OF HEART

¹PETUKHOV D. M., ¹KUCHMENKO O. B., ²YEVSTRATOVA I. N.,
²MKHITARYAN L. S., ¹DONCHENKO G. V.

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

²*National Scientific Center "M. D. Strazhesko Institute of Cardiology",
Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: dmipet@yahoo.com*

The misbalancing of bioenergetical processes is an important cause in development of heart's ischemia. Ubiquinone (coenzyme Q, CoQ) is the key component of cellular bioenergetics as a transporter of electrons in mitochondrial electron-transport chain and is an important lipid-soluble endogenously synthesized antioxidant. Endogenous CoQ biosynthesis is a multi-step process with subtle regulation mechanisms that are often disrupted under different pathological conditions and in healthy organism under irrational feeding, deficit of vitamins, negative environmental impact, and in aging. Additional administration of CoQ is often used in the form of CoQ medicals to provide an organism with sufficient amount of this coenzyme, but this may lead to inhibition of its endogenous synthesis.

The aim of the present work was to study the effect of complexes of precursors and modulators of CoQ biosynthesis – α -tocopherol acetate, 4-hydroxybenzoic acid, methionine with or without dimethylsulfoxide (BAS complexes) – on cellular bioenergetics, pro- to antioxidant balance, and sensitivity of mitochondrial-permeability transition pore (MPTP) in rats' heart and liver under adrenalin-induced ischemia. Adrenalin-induced ischemia was modeled on male rats by intramuscular infusion of adrenaline. The complexes were administrated *per os* both as preventive measure and for treatment after adrenaline administration.

Under adrenalin-induced ischemia CoQ content increases in liver homogenates and decreases in heart and liver mitochondria. Administration of BAS complexes leads to an increase in CoQ content in mitochondria. Activity of NADH-CoQ-oxidoreductase and cytochrome-*c*-oxidase decreases in the liver and heart mitochondria under adrenalin-induced ischemia. Administration of BAS complexes normalizes their activities in the liver and heart mitochondria. Activity of succinate-CoQ-oxidoreductase in the liver and heart mitochondria does not change under ischemia as well as correction by BAS complexes. Administration of BAS complexes leads to normalization of free radical lipid peroxidation (indicated by the content of conjugated dienes and TBA-reactive products) and protein peroxidation and activity of antioxidant enzyme systems (catalase and superoxide dismutase) in the heart and liver which are changed under ischemia. Sensitivity of MPTP to inductors of its opening was studied on the heart and liver mitochondria. The results obtained demonstrate the protective qualities of BAS complexes on sensitivity of MPTP under ischemia.

The results obtained provide ground for application of complexes of CoQ precursors and modulators of its biosynthesis for reducing the ischemia-induced lesions of the heart.

ВМІСТ ОМЕГА-3 ПНЖК У ТКАНИНАХ БІЛИХ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ТА ВІКУ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ КСЕНОБІОТИКАМИ

¹ПОКОТИЛО О. С., ²НЕДОШИТКО Х. Ю.,
²КОВАЛЬ М. І., ²ПРИВРОЦЬКА І. Б.

¹Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя, Україна;

²Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського, Україна

На сьогодні відомо, що омега-3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), крім виконання структурної ролі у фосфоліпідах мембран, є месенджерами ряду біологічно активних речовин (простагландинів, тромбоксанів, лейкотриєнів та ін.) та регуляторами експресії генів, чим впливають на метаболізм речовин. До числа таких найбільш значимих омега-3 ПНЖК відносять ліноленову (ЛК), ейкозапентаєнову (ЕПК) та докозагексаєнову (ДГК) жирні кислоти. Жирнокислотний профіль ліпідів плазматичної мембрани обумовлює її фізико-хімічні властивості та визначає особливості адаптації клітини до дії різних чинників середовища, в тому числі поширених ксенобіотиків з числа ліків. Тому метою досліджень було встановлення відносного вмісту ЛК, ЕПК та ДГК у загальних ліпідах плазми крові та печінки самок і самців 1-, 6- та 12-місячних білих щурів при інтоксикації парацетамолом (ІП), тетрацикліном (ІТ) та етиловим алкоголем (ІЕА). Жирнокислотний склад екстрагованих ліпідів, визначали методом газорідинної хроматографії на газовому хроматографі Hewlett Packard HP-6890.

У результаті проведених досліджень встановлено, що відносний вміст ЛК, ЕПК та ДГК у плазмі крові та печінці інтактних 1-місячних самок та самців щурів є вищим, ніж у 6- та 12-місячних ($P < 0,05$). Одночасно виявлено більший відносний вміст усіх омега-3 ПНЖК у печінці, ніж у крові як самок, так і самців усіх вікових категорій. При цьому відносний вміст ЛК у плазмі крові та печінці інтактних самок і самців в однакових вікових групах істотно не відрізнявся, тоді як вміст ЕПК у 6- та 12-місячних самців був вищим, а вміст ДГК — нижчим, ніж у самок такого віку. При ІП, ІТ та ІЕА відмічено достовірне зменшення омега-3 ПНЖК у плазмі крові та печінці самок і самців щурів усіх вікових категорій, порівняно з відповідними групами інтактних тварин.

За умов ІЕА зменшення відносного вмісту ЕПК та ДГК у загальних ліпідах печінки самок більш виражено, ніж при ІП та ІТ; тоді як у печінці самців більше таких змін при ІП та ІТ. У віковому аспекті вказана тенденція зменшується у печінці самців з ІТ та ІП в ряді: 1-місячні > 6-місячні > 12-місячні тварини; у самок: 12-місячні > 6-місячні > 12-місячні тварини.

Таким чином, при ІП, ІТ та ІЕА виникають достовірні зміни щодо зменшення відносного вмісту ЛК, ЕПК та ДГК у загальних ліпідах крові та печінці 1-, 6- та 12-місячних щурів, які більшою мірою виражені у самок, ніж у самців, що обумовлено фізіологічними та органотканинними особливостями метаболізму ЛК, ЕПК та ДГК у тварин різної статі.

ИЗУЧЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ОКСИДАНТНЫХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ОЖОГАХ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

ПОЛИКАРПОВА А. В.

Харьковский национальный медицинский университет, Україна

Ожог — часто возникающая травма, поэтому исследованию динамики заживления ожоговых повреждений, а также разработке новых методов терапии уделяется огромное внимание как со стороны биохимиков, так и со стороны клиницистов. Одним из важных показателей, которые могут осветить особенности реакции организма на различные виды ожогов, является состояние систем пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОС), исследования которых позволяют дифференцированно подойти к вопросу о лечении таких повреждений.

Целью работы было сравнение динамики изменений уровней показателей продуктов ПОЛ и АОС при ожогах кожи различной этиологии. Исследования проводили на 4-ех месячных морских свинках. Термический ожог вызывали контактным путем. Химический ожог производили путем аппликации 20% раствора соляной кислоты. Лучевой ожог вызывали путем радиационного воздействия X-лучей в экспозиционной дозе 60 Гр. Степень всех видов ожогов определяли как третью. В сыворотке крови и гомогенатах тканей исследовали интенсивность ПОЛ и состояние АОС в динамике.

Было выявлено, что в течение 1-го часа после термического и химического воздействия на фоне бурной воспалительной реакции наблюдается повышение концентрации продуктов ПОЛ с последующим снижением их уровня. При лучевом ожоге в течение 21 сут. наблюдается стойкая активация ПОЛ. Следует отметить, что ожоги, полученные вследствие воздействия заданной дозы ионизирующего излучения, не способны к самостоятельному заживлению и приобретают хроническое течение. При химическом и термическом ожогах максимальное значение концентрации энзимов АОС как в сыворотке крови, так и в коже достигается через 1 сут. после воздействия. При радиационном ожоге на 21 сут. наблюдалось снижение уровней энзимов АОС наряду с резким повышением концентрации продуктов ПОЛ. Это свидетельствует о чрезвычайно интенсивном повреждении мембранных структур клеток и декомпенсации систем защиты вследствие истощения антиоксидантных резервов.

Полученные результаты позволяют предположить, что ингибирование ПОЛ и активация АОС дает возможность начать репарацию, тогда как дисбаланс между оксидантно-антиоксидантными процессами оказывает тормозящий эффект на синтез протеина, вследствие чего дефект не заполняется грануляциями и самостоятельного заживления не происходит.

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИПРОЛІФЕРАТИВНОЇ ДІЇ НАНОЧАСТИНОК, НАВАНТАЖЕНИХ ПРОТИПУХЛИННОЮ СИСТЕМОЮ РЕНІЙ–ПЛАТИНА

ПОЛОХІНА К. В., ПАРАМОНОВА К. В.,
ШТЕМЕНКО Н. І.

*Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: contra89me@gmail.com*

У наших попередніх дослідженнях було показано антиканцерогенний ефект сполук ренію в моделі видоспецифічної карциноми Герена у разі введення тваринам-пухлиноносіям, особливо значний за одночасного введення з цис-платином (сPt) [Anticancer Research] 2007; Dalton Transact., 2009]. Подальше впровадження цих перспективних сполук у медичну практику пов'язане із вирішенням питання їхнього впливу на ракові клітини людини.

Метою роботи було вивчити антипроліферативні властивості кластерної сполуки реній-цис-дибетааланінтетрахлориду μ -диренію(III) – $(\text{Re}_2(\beta\text{Ала})_2\text{Cl}_4)$ і сPt у розчинах, ліпосомних формах та у формах твердих наночастинок у разі індивідуального введення сполук чи дії їхньої суміші (система) на Т-клітини ліній Jurkat лейкемії людини J747 (нормальні макрофаги), а також з'ясувати механізми їхньої антинеопластичної дії. У ході експерименту використовували такі хімічні сполуки: сPt (розчин), $\text{Re}_2(\text{b-ala})_2\text{Cl}_4$ (розчин), системи $\text{Re}_2(\beta\text{Ала})_2\text{Cl}_4 + \text{сPt}$ (4 : 1) (розчин), сPt, $\text{Re}_2(\beta\text{Ала})_2\text{Cl}_4$, $\text{Re}_2(\beta\text{Ала})_2\text{Cl}_4 + \text{сPt}$ (4 : 1) у формі твердих наночастинок (SNP) та $\text{Re}_2(\beta\text{Ала})_2\text{Cl}_4$, $\text{Re}_2(\beta\text{Ала})_2\text{Cl}_4 + \text{сPt}$ (4 : 1) препарат у ліпосомній формі. При цьому досліджували величини концентрацій препаратів від 10^{-5} до 10^{-9} М. Було вивчено такі показники: кількість клітин в культурі, загальна морфологія, ступінь активності (для J747), а також переважний механізм загибелі клітин.

Виходячи з результатів експерименту можна зазначити, що максимальний цитотоксичний ефект виявляється за дії розчину сPt та системи $\text{Re}_2(\beta\text{Ала})_2\text{Cl}_4 + \text{сPt}$ (як у розчиненій, так і в ліпосомній формі) на 3-тю добу досліду. За використання системи $\text{Re}_2(\beta\text{Ала})_2\text{Cl}_4 + \text{сPt}$ в різних формах у концентраціях препарату 10^{-6} і 10^{-7} М, апоптичних клітин було виявлено більш ніж 60%, що вказує на перевагу апоптозу як механізму загибелі клітин над некрозом. Під час випробування цієї серії препаратів *in vivo* раніше було показано, що ліпосомна форма виявляє вираженіший антипроліферативний ефект, ніж розчинені форми. Можна припустити, що це пов'язано з механізмом транспортування препарату в організмі та зі значним зниженням кількості його побічних ефектів в організмі в цілому.

На сьогодні механізм впливу кластерних сполук ренію з органічними лігандами та системи на процес канцерогенезу є маловивченим. Ми припускаємо, що вплив кластерних сполук ренію з органічними лігандами включає їхню взаємодію з ДНК, як було показано для металоорганічних сполук спорідненої будови.

ЕФЕКТИ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СПОСОБУ ВВЕДЕННЯ

ПОПОВА Л. Д., ВАСИЛЬЄВА І. М.

Харківський національний медичний університет, Україна

Необхідність аскорбінової кислоти (АК) для організму не викликає сумніву, втім до цього часу є невирішеним питання стосовно доз аскорбінової кислоти, оптимальних з точки зору засвоєння, ефективності та побічної дії. Згідно даним літератури, не спостерігається пропорційність між дозою та концентрацією АК у крові, якщо добова доза АК перевищує 200 мг. Використання високих доз АК призводить до негативних ефектів, серед яких – пригнічення функції інсулярного апарату підшлункової залози, гіперглікемія, глюкозурія, гіпероксалуриція та ін. Терапевтичну дію АК, зокрема на розвиток пухлин, деякі автори пов'язують з антиоксидантними, а інші – з прооксидантними ефектами АК.

Метою роботи було вивчення впливу перорального (п/о) та внутрішньом'язового (в/м) введення АК на активність NO-синтази, каталази, пероксидази та вміст глюкози і сечової кислоти в крові морських свинок. У експерименті використано 20 трьохмісячних морських свинок. Використання саме морських свинок у якості об'єкта дослідження обумовлено тим, що їх організм, подібно до організму людини, нездатний синтезувати АК. Аскорбінову кислоту вводили в дозі 4мг/кг маси тіла (що відповідає 280 мг на добу для людини з масою 70 кг).

Було виявлено зростання активності індукцибельної NO-синтази під впливом АК ($P < 0,05$), більш вагоме – за умов в/м введення ($P < 0,05$). Підвищення ендотеліальної NO-синтази спостерігалось лише після п/о введення АК ($P < 0,05$). Як п/о, так і в/м введення АК призводило до зростання активностей каталази та пероксидази, проте при п/о введенні виявлялося більш істотне зростання активності пероксидази, а при в/м введенні – каталази. Зважаючи на те, що індукцибельній NO-синтазі належить більш вагома роль у продукуванні активних форм кисню, а також беручи до уваги те, що каталаза є біфункціональним ензимом, що виявляє як каталазну, так і пероксидазну активність в залежності від концентрації пероксиду водню, можна припустити, що прооксидантні ефекти АК більш виражені при в/м введенні. Рівень сечової кислоти у сироватці крові зменшувався як після п/о, так і в/м введення АК. Відомо, що сечова кислота має антиоксидантні властивості. Зменшення її вмісту після введення АК можливо пов'язано з її посиленням використанням як антиоксиданта та перетворенням до алантоїну. Рівень глюкози зменшується незалежно від засобу введення АК. Очевидно використані дози не мають негативного впливу на інсулярний апарат підшлункової залози. Одержані результати свідчать, що спосіб введення АК у досліджуваній концентрації не впливає на її засвоєння.

ОСОБЛИВОСТІ ГОРМОНАЛЬНОГО ДИСБАЛАНСУ НА ФОНІ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ

ПОРОХНАВЕЦЬ Л. Є., ЯСТРЕМСЬКА О. О.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: oksana_yastremska@ukr.net*

Метою роботи було оцінити міжгормональні зв'язки андрогенів і глюкокортикоїдів у хворих із порушенням ліпідного обміну.

Проведено дослідження рівня складових глюкокортикоїдів і андростероїдогенезу на фоні змін показників ліпідного обміну (холестеролу та фракцій ліпопротеїнів) у 14 хворих на ішемічну хворобу серця з ознаками атеросклерозу і у 11 — на стенокардію напруження. Вік пацієнтів — 50–75 років. Визначення рівня холестеролу у сироватці крові проводили за допомогою набору Lachema (Чехія), фракції ліпопротеїнів виділяли методом електрофорезу. Андрогенну функцію надниркових залоз оцінювали за екскрецією 17-кетостероїдів (17-КС) та їх складових. Глюкокортикоїдну активність визначали за рівнем екскреції 17-кетогенних стероїдів (17-КГС). Склад 17-КС досліджували хроматографічним методом на силуфолі Lachema (Чехія) з наступною денситометрією. Ідентифікацію плям на хроматограмі проводили за допомогою зразків гормонів (Calbiochem, США). Для об'єктивної оцінки екскреції андрогенів у складі 17-КС запропоновано розрахунок індексу андрогенності, що відображає величину відношення суми андростероїдогенезу до суми похідних глюкокортикоїдів. Контрольні дослідження проведено у 20 здорових осіб.

Аналіз отриманих показників показав, що значення коефіцієнта 17-КС/17-КГС на фоні гіперхолестеролемії і дисліпопротеїнемії за рахунок атерогенних фракцій β - і пре- β -ліпопротеїнів знижується порівняно з контролем ($P < 0,001$). Виявлено низький рівень андрогенів на фоні підвищення екскреції глюкокортикоїдів. Зменшується величина індексу андрогенності, тобто низьким є вміст складових андростероїдогенезу порівняно з показниками похідних глюкокортикоїдів.

Таким чином, дискортицизм призводить до дисбалансу в бік посилення катболічної функції надниркових залоз, пригнічення активності метаболітів андростероїдогенезу, індукує підвищення рівня ліпідів у крові та розвиток атеросклеротичних змін у судинах. Одержані дані дають підставу рекомендувати корекцію міжгормональних зв'язків андрогенів і глюкокортикоїдів під час комплексного лікування гіперліпідемії.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМ ЗАЩИТЫ ТКАНЕЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ОТ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ПУБЕРТАТНОМ ВОЗРАСТЕ

РЕДЬКО А. В., ВОЛКОВА Ю. В., РУДЕНКО В. В.,
ГРАБОВЕЦКАЯ Е. Р., ГОЛОБОРОДЬКО А. В.,
СУХОВА Л. Л., ДАВЫДОВ В. В.

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

На этапе полового созревания организм проявляет высокую чувствительность к действию неблагоприятных факторов среды. Следствием того становится высокая заболеваемость подростков сердечно-сосудистой патологией, а также заболеваниями центральной нервной системы и желудочно-кишечного тракта. Принимая во внимание значение стимуляции свободнорадикальных процессов в механизме возникновения внутренней патологии, можно предположить, что в основе этого возрастного феномена лежит повышение чувствительности тканей внутренних органов к действию повреждающих факторов оксидативного стресса на данном этапе онтогенеза. Учитывая это, целью работы явилось изучение энзимных систем защиты тканей внутренних органов от свободнорадикального повреждения у крыс пубертатного возраста.

В субклеточных фракциях сердца, печени и головного мозга крыс 1,5-, 2- и 12-месячного возраста исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), энзимов утилизации эндогенных альдегидов (глутатионтрансферазы, альдегидредуктазы и альдегиддегидрогеназы), а также определение содержания восстановленного глутатиона и активности NADP-зависимых дегидрогеназ и глутатионредуктазы.

Исследования показали, что в тканях внутренних органов крыс пубертатного возраста, в большей мере у 1,5-месячных животных, в виду понижения активности соответствующих энзимов в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях, формируются метаболические предпосылки для понижения эффективности функционирования энзимной системы первой линии антиоксидантной защиты, а также утилизации эндогенных альдегидов и ограничения роли восстановленного глутатиона в защите клетки от ее свободнорадикального повреждения. Все это может лежать в основе повышения восприимчивости организма к действию неблагоприятных факторов внешней среды и росту патологий внутренних органов и центральной нервной системы на этапе полового созревания.

РОЛЬ ОСТЕОАССОЦИИРОВАННЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ФОРМИРОВАНИИ ОСТЕОДЕФИЦИТА ПРИ МЕНОПАУЗЕ

РЫБАЛКО Л. М., ЗЯБЛИЦЕВ С. В., СИНЯЧЕНКО О. В.

*Донецкий национальный медицинский университет
им. М. Горького, Украина;
e-mail: zsv@medic.donetsk.ua*

В общей популяции женщин признаки остеопороза (ОД) наблюдаются в 2–16% случаев, а в Украине — в 11–24%. Уже спустя 4 года после прекращения менструаций ОД развивается у 37% женщин. Формирование ОД происходит еще в менструальном периоде, а ежегодная потеря костной массы с наступлением климакса увеличивается втрое. Можно предположить, что выяснение патогенетической значимости нарушений метаболизма остеопороз-ассоциированных микроэлементов (ОАМЭ) будет способствовать разработке критериев ранней диагностики ОД и новых методов лечения заболевания. Целью исследования стала сравнительная оценка состояния ОАМЭ в организме женщин в пре- и постменопаузальном периоде, с наличием ОД и без такового. Под наблюдением находились 76 женщин в возрасте от 35 до 70 лет, среди которых было 39 менструирующих женщин, составивших 1-ю группу и 37 женщин в периоде менопаузы (2-я группа). Всем женщинам делали рентгенологическое и денситометрическое исследование, а в волосах определяли содержание ОАМЭ (Al, Cd, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Pb, Sr, Zn) с использованием атомно-абсорбционного спектрометра с электрографитовым атолизатором (SolAAr Mk2 MOZe, Великобритания). По данным денситометрии ОД установлен в 36,8% наблюдений, причем в 1-й группе — в 15,4% случаев, а во 2-й — в 59,5%. У менструирующих женщин уровень в волосах Al составил $22,0 \pm 2,52$ мкг/г, Cd — $49,4 \pm 5,96$ нг/г, Co — $56,6 \pm 8,94$ нг/г, Cu — $11,8 \pm 0,61$ мкг/г, Fe — $12,2 \pm 0,77$ мкг/г, Li — $29,7 \pm 2,59$ нг/г, Mn — $947,9 \pm 107,81$ нг/г, Pb — $0,6 \pm 0,09$ мкг/г, Sr — $21,1 \pm 2,40$ мкг/г, Zn — $176,0 \pm 7,02$ мкг/г. С наступлением менопаузы происходило достоверное уменьшение на 66% содержания Al ($P < 0,001$), на 93% — Cd ($P < 0,001$), на 39% — Co ($P = 0,022$), на 18% — Cu ($P = 0,002$), на 25% — Fe ($P = 0,001$), на 55% — Mn ($P < 0,001$), на 48% — Sr ($P = 0,003$) и на 18% — Zn ($P = 0,001$). По данным дисперсионного и регрессионного анализа на интегральное состояние ОАМЭ у женщин 1-й группы оказывал влияние возраст ($P = 0,048$). На развитие ОД у женщин в пре- и постменопаузальном периоде оказывали достоверное воздействие все изученные ОАМЭ, кроме Mn, но роль их в разные периоды была различна. Так, в 1-й группе формирование ОД определяли Cd ($P = 0,003$), Co ($P < 0,001$), Cu ($P = 0,015$), Li ($P = 0,002$) и Pb ($P = 0,004$), а во 2-й — Al ($P = 0,025$), Fe ($P = 0,015$), Sr ($P = 0,003$) и Zn ($P = 0,049$). Если развитие ОД у менструирующих женщин сопровождалось достоверным уменьшением содержания в волосах на 84% Cd ($P = 0,003$), на 32% Cu ($P = 0,015$) и на 64% Li ($P = 0,002$) при увеличении концентраций Co в 4,5 раза ($P < 0,001$) и Pb в 2,4 раза ($P = 0,004$), то у женщин в постменопаузальном периоде ОД протекал со снижением параметров Sr на 74% ($P = 0,001$), Zn — на 13% ($P = 0,032$), повышением Al на 50% ($P = 0,018$) и Fe — на 22% ($P = 0,006$). Таким образом, диморфизм микроэлементоза при формировании ОД у женщин в пре- и постменопаузальном периоде

характеризовався сдвигами в 1-й групі Cd, Co, Cu, Li і Pb, а во 2-й — Al, Fe, Sr і Zn. Представлені дані дозволять розробити нові критерії ранньої діагностики ОД у жінок в пре- і постменопаузальному періоді, удосконалити медичну технологію лікування хворих з ОД в залежності від збереженості менструальної функції і після настання клімаксу, а вже зараз маркерами костного метаболізму при появі ОД у жінок 1-ї групи можуть стати показники в волосі Co і Li.

ВІДПОВІДЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ *Drosophila* НА СПОЖИВАННЯ РІЗНИХ ВУГЛЕВОДІВ

РОВЕНКО Б. М., ЛУЩАК В. І.

*Прикарпатський національний університет імені Василя
Стефаника, Івано-Франківськ, Україна;
e-mail: bohdanarovenko@gmail.com*

На сьогодні існує достатня кількість повідомлень про те, що дієта є одним із тих факторів, які можуть викликати адаптивну відповідь клітин через зміну їхнього антиоксидантного статусу. У зв'язку з цим метою роботи було з'ясувати відповідь антиоксидантної системи плодової мушки *Drosophila melanogaster* на споживання різної кількості вуглеводів.

Об'єктом дослідження була антиоксидантна система плодової мушки дводенного віку лінії *Canton S*. В ході дослідження використовували чотири типи експериментальних середовищ, що містили різні вуглеводи (глюкозу, фруктозу, сахарозу і еквімолярну суміш глюкози і фруктози) і п'ять типів середовищ, що відрізнялися концентрацією вуглеводу (0,25, 1, 4, 10 і 20%). Таким чином, розвиток мух проходив на 20-ти типах середовищ при температурі 25 °C і постійному освітленні.

Вуглеводна дієта суттєво не позначалася на величині показників оксидативного стресу. Зокрема, дещо нижчий рівень карбонільних груп протеїнів у мух, що розвивалися на дієтах з високим вмістом вуглеводів, недостовірно відрізнявся від контролю. За контроль приймали дієту з найнижчим вмістом вуглеводів у середовищі. Результати порівнювали за критерієм Даннета. Тенденція, яка позначала дещо вищий рівень пероксидів ліпідів у мух, які розвивалися на середовищах з високим вмістом вуглеводів, мала місце для всіх експериментальних груп самців і самок, але достовірно вищий рівень пероксидів ліпідів знайдений лише у особин обох статей, які розвивалися на середовищах із 20% глюкозою (різниця складала близько 100%). Не було виявлено жодних достовірних відмінностей у кількості тіольних груп у низькомолекулярних сполуках в обох статей. Водночас, кількість тіольних залишків у високомолекулярних сполуках у самок була в середньому на 60% вищою у разі високих концентрацій вуглеводів у середовищі і не була пов'язана із вищим вмістом загального протеїну.

Активність антиоксидантних ензимів, зокрема, супероксиддисмутази (СОД) суттєво залежить від концентрації, але не від типу вуглеводу в середовищі. Так, у мух, які розвивалися на середовищах із 20% концентрацією вуглеводів, активність СОД приблизно вдвічі нижча за активність СОД у відповідних контрольних

групах. Також показано, що активність каталази відмінна на середовищах з різною кількістю вуглеводів і залежить від статі плодової мушки. У самців за вищих концентрацій вуглеводів у середовищі активність каталази вища, в той час як у самок — нижча (порівняно з контролем).

СИНТЕЗ ПОРФИРИНОВ У БОЛЬНЫХ НЕФРОПАТИЕЙ ПРИ СИСТЕМНЫХ И ОБМЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

¹РОССИХИН В. В., ²ЯКОВЕНКО М. Г., ²ЯКОВЕНКО Н. В.,
²КОРНИЕНКО Е. М.

¹Харьковская медицинская академия последипломного
образования, Украина;

²Харьковский национальный университет
им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: rossikhin@rambler.ru

Хроническая почечная недостаточность (ХПН) сопровождается анемией независимо от типа заболевания, но, генез гематологических изменений остается неясным.

Цель работы — изучение биосинтеза порфиринов в эритроцитах при вторичной нефропатии на разных стадиях почечной недостаточности и его связи с развитием анемического синдрома.

Обследовано 126 больных с системными и общими заболеваниями, у 54 больных без признаков поражения почек, у 72 обнаружена нефропатия, у 28 без нарушения функций почек, у 44 — ХПН.

В работе исследовали биосинтез порфиринов в эритроцитах по Идельсону, уро-, копро- и протопорфирины спектрофотометрическим методом; неиспользованный б-АЛК и синтезированный порфобилиноген (ПБГ). Синтезированные после инкубации порфирины выражали в процентах от общих синтезированных порфиринов, б-АЛК вычисляли в процентах добавленного количества при инкубации; изучали активность порфобилиногенсинтазы (ПБГ-С) в крови; методом тонкослойной хроматографии определили порфириновые фракции в эритроцитах после инкубации б-АЛК; определили гематологические показатели.

У больных с ухудшением функционального состояния почек, появлением ХПН и нарастанием азотемии усугубляется анемия. У больных подагрой и красной волчанкой без нефропатии, показатели крови и уровень непротеиновых азотсодержащих веществ, а также биосинтез порфиринов были в границах нормы. У больных системной красной волчанкой без нефропатии кортикостероиды не влияли на биосинтез порфиринов, такая же закономерность установлена и у больных нефропатией на почве миеломы в стадии компенсации, леченных цитостатиками. Уровень уропорфирина существенно снижался, а уровень ПБГ в эритроцитах у больных вторичной нефропатией понижается более чем на 60% по мере прогрессирования ХПН. Установлено достоверное снижение процента использованной для синтеза порфиринов б-АЛК. Активность ПБГ-С также уменьшается по мере прогрессирования ХПН.

Установлена низкая корреляционная связь между уровнем непротеиновых азотсодержащих веществ в сыворотке крови больных и количеством синтезированных порфиринов. Торможение биосинтеза порфиринов при вторичной нефропатии может приводить к возникновению анемического синдрома, обусловленного разными факторами. При вторичной нефропатии продукция эритропоэтинов уменьшается, что приводит к снижению активности энзимов. Снижение биосинтеза порфиринов в стадии компенсаций может приводить к более раннему возникновению и более тяжелому течению анемии, у этой категории больных.

ФУНКЦІЯ ГІПОФІЗАРНО-ТИРЕОЇДНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ АЛКОГОЛІЗМОМ В УМОВАХ РІЗНОГО СТУПЕНЯ ЙОДНОГО ДЕФІЦИТУ

¹РОСТОКА Л. М., ²ТУРЯНИЦЯ І. М.

¹Ужгородський національний університет, Україна;

²Словацький сільськогосподарський університет, Німра;
e-mail: Rostoka@yandex.ru

Метою дослідження було вивчення гіпофізарно-тиреоїдного статусу організму у хворих на алкоголізм, жителів різних біогеохімічних зон Закарпаття: гірської — з вираженим дефіцитом йоду та низинної — з нижчим ступенем йодної недостатності.

У клініко-біохімічних дослідженнях вивчалась сироватка крові та сеча хворих на алкоголізм, причому 14 — із низинної зони Закарпаття з менш вираженим екологічним дефіцитом йоду в зовнішньому середовищі та 10 — з гірського району з більшим ступенем його дефіциту. Контролем була група здорових людей: 29 — із низинної зони та 25 — із гірських районів. Вміст тироксину (T_4), трийодтироніну (T_3), тиреотропного гормону (ТТГ) в сироватці крові визначали радіоімунологічним методом з використанням стандартних тест-наборів. Загальний йод (ЗЙ) в крові та сечі вивчали церій-арсенідним методом.

Показано, що алкоголізм супроводжується підвищеними втратами йоду з сечею і збідненням йодних резервів організму як у низинній, так і в гірській зонах Закарпаття, з різним ступенем йодного дефіциту, ускладнюючи йодну недостатність організму на тлі підвищеного пулу T_3 . Як наслідок, зростає доля катаболічних процесів і кахектичних станів в гірській більш йододефіцитній зоні. Більш виражена продукція T_3 у хворих в гірській зоні, вірогідно, є результатом підвищеної стимуляції пияцтвом конверсії в тканинах T_4 в T_3 . Поряд з цим у хворих гірської зони відмічена автивація функції щитовидної залози та відповідно зростання рівня T_4 , на фоні виявленого дефіциту ТТГ у сироватці крові, що може призводити до її швидкого функціонального виснаження з подальшим ускладненням негативних наслідків, які зумовлюють перехід від стимуляції до порушень тиреоїдної регуляції метаболізму, фізичної та інтелектуальної деградації. Ці дані обґрунтовують доцільність підключення до загальноприйнятої терапії йодної корекції, що може суттєво покращити стан цілого ряду метаболічних реакцій, включаючи енергетичний обмін та функцію імунної системи, і таким чином, хоча б частково відновити загальні біологічні можливості організму та сповільнити чи зупинити процеси деградації особистості.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТУ ВІТАМІНУ D₃ ЗА УМОВ АЛІМЕНТАРНОГО ОСТЕОПОРОЗУ

РЯСНИЙ В. М., МОІСЕЄВА Л. Г.

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: Riasniy@ukr.net*

В основі розвитку остеопорозу, який займає третє місце в рейтингу основних медико-соціальних проблем сучасності, лежать порушення структурно-функціональної активності кісткової тканини, наслідком чого є зменшення кісткової маси, її щільності, з підвищенням крихкості кісток та збільшення ризику їх переломів. Одним із важливих факторів, що сприяє розвитку остеопорозу є недостатність кальцію в організмі, внаслідок хронічного D-гіповітамінозу. Тому для лікування цієї патології використовують вітамін D₃, який є регулятором основних фізіологічних процесів у кістковій тканині. Високу ефективність у лікуванні остеопорозу також виявляють бісфосфонати, молекулярна структура яких обумовлює їхнє зв'язування із кальцій-фосфатами у кістковій тканині, що забезпечує збільшення кісткової маси та зменшення ризику переломів.

Метою роботи було вивчити ефективність комплексу бісфосфонату (дигідрату динатрієвої солі метиленбісфосфонової кислоти) та вітаміну D₃ у лікуванні остеопорозу. Досліди проводили на моделі аліментарного (пов'язаного із недостатком забезпеченості організму вітаміном D₃) остеопорозу.

Про розвиток остеопорозу свідчать зміни структурно-функціонального стану кісткової тканини: зниження довжини та товщини дистального епіметафізу стегнової та великогомілкової кісток, гіпертрофія хрящових клітин, потоншення компактної кісткової тканини, порушення формування остеонів, вставних пластинок та внутрішніх оточуючих пластинок, зниження маси та зольності великогомілкової кістки. Все це супроводжується зниженням вмісту кальцію та фосфору у кістковій тканині. За цих умов відмічається вірогідне зниження кальцію у сироватці крові на 40%, зростання у 1,5 раза активності загальної лужної фосфатази, головним чином за рахунок її кісткового ізоензиму, що є результатом недостатньої забезпеченості організму 25ОНD₃.

Введення дигідрату динатрієвої солі метиленбісфосфонової кислоти сумісно із вітаміном D₃ та кальцієм нормалізує мінеральний обмін в організмі. Так, зростає на 27 та на 23% вміст кальцію та фосфору у золі та відбувається відновлення структурно-функціональної організації компактної кісткової тканини та епіфізарного хряща, що є наслідком нормалізації D-вітамінного обміну.

СТАН КОАГУЛЯЦІЙНОЇ ЛАНКИ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ ТА ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ

¹СЕМЕНОВ С. С., ¹ШАМЕЛАШВІЛІ К. Л., ¹ЧУГУЗ О. О.,

²ЛОСКУТОВА Т. О., ³КЛЕНІНА І. О., ¹ШТЕМЕНКО Н. І.

¹Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара, Україна;

²Дніпропетровська державна медична академія, Україна;

³ДУ «Інститут гастроентерології АМН України», Дніпропетровськ;
e-mail: ashtemenko@yahoo.com

Хіміотерапевтичні препарати здійснюють вплив на стан підвищеного згортання крові при канцерогенезі, збільшуючи ризик тромбічних ускладнень. Тромбоз є частим ускладненням злоякісного розвитку, тромбоемболічна смерть — одна з причин летальності при новоутвореннях. Поширення патологій системи згортання, викликаних канцерогенезом, вимагає пошуку нових засобів спрямованого впливу на гемостаз. Метою роботи було визначення показників системи згортання крові та оксидативного стресу при канцерогенезі, у разі введення кластерних сполук ренію та цис-платину. Для досягнення поставленої мети визначали: протромбіновий тест, АЧТЧ скринінг-тест для оцінки внутрішнього механізму згортання крові, концентрацію фібриногену, судинно-тромбоцитарний компонент гемостазу, інтенсивність пероксидного окислення ліпідів та активність ензимів антиоксидантного захисту загальноприйнятими методами. Використовували модель канцерогенезу (карцинома Герена Т8) на щурах, кластерні сполуки ренію з органічними лігандами різної будови, цис-платину та систему реній-платина, що вводили різними методами. Виявлено, що канцерогенез викликає підвищення функціональної активності системи згортання крові та супроводжується оксидативним стресом. Змішані наноліпосоми, навантажені сполуками ренію з ізобутиратним лігандом і цис-платином здатні частково відновлювати II і III фази згортання крові у щурів-пухлиноносіїв. Введення наночастинок (внутрішньочеревинно) сполуки ренію з ацетатофосфатним лігандом у системі з цис-платином було найбільш ефективними у стабілізації зовнішнього шляху згортання. Виявлено кореляцію між гемокоагуляційними змінами, ефектом гальмування росту карциноми Герена та параметрами оксидативного стресу внаслідок дії наночастинок, введених внутрішньочеревинно. Введення наночастинок внутрішньочеревинно та *per os* діяло ефективніше на нормалізацію внутрішнього механізму згортання крові. Використання в онкотерапії наноліпосом та наночастинок, навантажених сполуками ренію, позитивно впливало на гемокоагуляційні параметри, але не впливало на порушення тромбоцитарного гемостазу.

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ЛЕГКОАТЛЕТІВ-СПРИНТЕРІВ ПІД ВПЛИВОМ ГІПОКСІЙНОГО ТРЕНУВАННЯ

СИБІЛЬ М. Г., СВИЩ Я. С.

*Львівський державний університет фізичної культури, Україна;
e-mail: sybmarine@yahoo.com*

Фундаментальні наукові дослідження в сучасному спорті орієнтовані на вирішення питань, пов'язаних з постійним удосконаленням традиційних методів підготовки спортсменів у поєднанні з використанням додаткових нетрадиційних методів і засобів, які спрямовані на розширення меж функціональних резервів організму спортсмена, його аеробної та анаеробної продуктивності. Одним із таких засобів є застосування штучної гіпоксії у тренувальному та змагальному процесі спортсменів, яке базується на відомих у медицині профілактичних і терапевтичних ефектах.

Метою роботи було дослідити зміни певних біохімічних параметрів у відповідь на додаткове тренування легкоатлетів-спринтерів в умовах штучної гіпоксії.

У дослідженні взяли участь 24 кваліфіковані бігуни на короткі дистанції, які протягом чотирьох місяців залучали у тренувальний процес додаткову гіпоксійну компоненту з використанням гіпоксикатора Фролова. Впродовж експерименту здійснювали біохімічний контроль за адаптаційними ефектами гіпоксійного тренування.

Виявлено позитивну динаміку катехоламінів, яка полягала у покращенні співвідношення між адреналіном і норадреналіном в бік реалізації гомеостезуючих реакцій симпатoadреналової системи за участю медіаторної ланки. Показано, що під впливом тривалих тренувань в умовах штучної гіпоксії має місце підвищена екскреція креатиніну, яка може бути спричинена підвищеним обміном креатинфосфату як фактора розширення меж адаптації до швидко-силової роботи.

Кінцевий метаболіт енергетичного обміну протеїнів та нуклеїнових кислот — сечовина — у бігунів на короткі дистанції впродовж експерименту залишається в межах нормальних величин (333–555 ммоль/добу), що дає підставу виключити сигнал SOS у відповідь на довготривале гіпоксійне тренування, незважаючи на приріст їхньої працездатності на 17,39% ($P < 0,001$) за велоергометричним тестом «Vita max».

Також спостерігали підвищення вмісту гемоглобіну у крові під впливом експериментального фактора, що прирівнює результати нашого експерименту до ефектів А. Колчинської (1992), здобутих під час тренування спортсменів у природних умовах середньогір'я.

Одержані результати змін біохімічних показників під час експерименту із залученням штучної гіпоксії у процес підготовки легкоатлетів-спринтерів, дають підставу відзначити суттєве розширення їхніх адаптаційних можливостей зі збереженням біохімічного статусу здорової людини.

COX-2/5-LOX AND NO-SYNTHASE SYSTEMS IN THE MECHANISMS OF DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL ULCERATIVE COLITIS

SKLYAROV O. Ya., PANASYUK N. B., FOMENKO I. S.

*Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Ukraine;
e-mail: sklyarov @meduniv.lviv.ua*

Increased NO, PGE₂ and leukotriens content in the mucous membrane of large intestine (MMLI) induces development of nitrosyl-induced and oxidative stress and formation of destructive change. Proceeding from the crucial part played by the systems of NO/NO-synthase, PGE/COX-2 and leukotriene/LOX in the development of ulcerative colitis, we have conducted investigations – to specify their role in this pathogenic process.

Experimental colitis was modeled by 1 ml of 4% acetic acid injected into rats' large intestine. Then the area and degree of destructive changes in the mucous membrane of large intestine, alterations in lipoperoxidation processes (MDA), activity of SOD, catalase, NOS, iNOS, cNOS, NO in MMLI and L-arginine contents in blood were determined. NO-synthases were blocked with aminoguanidine (20 mg/kg), COX-2 – with celecoxib (10 mg/kg) was introduced perorally, 5-LOX – AA-861 (50 mg/kg) – intraperitoneal. Obtained results were processed by the variation statistics method at Student's t-criterion determined.

Injection of acetic acid caused ulcerative defects, erosions, hemorrhages in the MMLI. There were observed: 2.5-fold enhancement of general NOS activity ($P < 0.05$), cNOS – by 21%, iNOS – 6.9-fold ($P < 0.001$), NO content increased by 64%. Blood L-arginine decreased by 50% ($P < 0.05$), MDA content increased 2.2-fold ($P < 0.001$), SOD activity – by 71% and catalase – by 54%. Blockage of iNOS with aminoguanidine induced a decrease of structural lesions, content of MDA products by 28% ($P < 0.05$), SOD activity – 2.3-fold ($P < 0.01$), catalase by 20%, and iNOS (by 46%, $P < 0.05$), cNOS activity changed slightly, NO content in the MMLI decreased by 50% ($P < 0.05$), concentration of L-arginine in blood plasma increased. Combined blockage of iNOS and COX-2 caused a decrease in MMLI destructive changes, MDA – by 39% ($P < 0.05$), SOD activity – by 53% ($P < 0.05$), iNOS – by 14%, activity eNOS enhanced by 22% ($P < 0.05$) versus results due to injection of aminoguanidine against the background of colitis. Combined blockage of iNOS, COX-2 and 5-LOX against the background of ulcerative colitis caused decrease of ulcerative lesion, iNOS – by 73% ($P < 0.001$), cNOS – by 45% ($P < 0.001$), NO content – by 34%, TBA products – by 27% ($P < 0.05$), activity of SOD – enhanced.

Combined blockage of iNOS, COX-2 and 5-LOX had a significant cytoprotective effect in ulcerative colitis.

RHENIUM-PLATINUM ANTITUMOR SYSTEM IN MODEL OF TUMOR GROWTH

SKORIK O. D., SHTEMENKO N. I.

*O. Gonchar Dnipropetrovsk National University, Ukraine;
e-mail: l_d_skorik@mail.ru*

Study of new metal organic substances with biological activity as medical preparation is a very significant problem. Rhenium substance has essential antioxidant and antitumor potential. It is also very important to find more effective mode of injecting the system. The liposomal and nanoliposomal forms of the rhenium cluster compounds are new effective methods of injection. Introduction of single doses of cisplatin and liposome forms of a rhenium compound according to the scheme of antioxidant therapy has been tested in the model of rat's specific Guerin's (T-8) carcinoma in this work.

The aim of the work was to investigate the influence of rhenium cluster compounds with organic ligands in liposomal form and of the rhenium-platinum system on biochemical parameters in blood of rats with Guerin's carcinoma.

The model of tumor growth (Guerin's carcinoma) was used. Wistar rats were inoculated with tumor Guerin's carcinoma (T-8) cells. Tumor transplantation was performed by subcutaneous injection of 20% Guerin's carcinoma cell suspension in the thigh area. Cisplatin and cluster rhenium compound – $[\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4\text{Cl}_2]$ (Re1), $\text{Re}_2(\text{AdCOO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{CH}_3\text{CN}$ (Re2) $[\text{Re}_2(\text{GABA})_2\text{Cl}_5]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Re3) were used. Concentration of TBA-activity products and activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (Cat), concentration of hemoglobin were measured.

A significant increase (28–71%) of hemoglobin concentration was shown in the rhenium compound's treated groups of animals in comparison to rats with Guerin's carcinoma (T-8 group). It was also observed the increase (7 times) of discocytes and decrease (3–5 times) of ehinocytes under the influence of rhenium compounds in comparison to tumor-bearing animals. This may be explained both by the efficacy of tumor growth prevention and of stabilization of erythrocyte's membranes by rhenium substances. Study in activity of antioxidant protection system's enzymes showed the significant increase (250%) activity of SOD in these groups. The reduction (1.6–4 times) of TBA-active products was found in the blood plasma of rats with tumor under the influence of rhenium compounds in comparison to T-8 group. This may be explained by the properties of unsaturated bonds in rhenium substances. Cluster rhenium compounds with organic ligands contain two atoms of Re and have a unique quadruple bond between two atoms of metal (Re-Re). The structure of these substances demonstrates their possible role as free-radical scavengers.

Cluster rhenium compound with organic ligands in liposomal forms enhanced the cisplatin action on tumor growth. These substances have antianemic, antioxidant and antitumor properties. So the novel antitumor rhenium-platinum system was elaborated. Rhenium cluster compounds demonstrated their properties of biochemical modulators of cisplatin action mechanism. Dichlorotetra- μ -isobutiratodirhenium(III) with formula: $[\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4\text{Cl}_2]$ (Re1) was the most efficient compound in the system.

**THE INFLUENCE OF SODIUM DICHLOROACETATE
ON DYNAMICAL PROPERTIES AND FUNCTIONAL ACTIVITY
OF INNER MITOCHONDRIAL MEMBRANE
FROM SARCOMA 37 TUMORS**

¹*SOROKINA L. V., ¹PROHOROVA A. O., ²DIDENKO G. V.,
¹STEPANOVA L. I., ¹KHYZHNYAK S. V.*

¹*Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;*

²*Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: sorokina_molbiol@mail.ru*

The application of new methods of molecular targeting is one of the promising directions in modern oncological practice. It was earlier shown that sodium dichloroacetate (SDA) interacts with the allosteric site of pyruvate dehydrogenase kinase that leads to activation of pyruvate dehydrogenase complex in mitochondria of tumor cell. The low toxicity, good penetration ability of SDA through biological membranes and the determined target of this substance foresees the capabilities of effective application of SDA for the selective targeting of tumor cells with damaged or hyperpolarized inner mitochondria membrane.

The aim of the present study was to investigate the dynamical properties of inner mitochondrial membrane (IMM), to evaluate the functional activity of IMM from the sarcoma 37 tumors and to determine the intensity of lipoperoxidation in the sarcoma 37 tumors under the influence of SDA administration.

The experiments were performed using mice-males Balb/c with sarcoma 37 tumors transplanted subcutaneously ($5 \cdot 10^6$ cells per animal). SDA was administered daily by intraperitoneal injection in the previously determined dose that caused the expressed antitumor effect on sarcoma 37 growth (total dosing 12.6 mg/kg). Mitochondria and IMM were isolated from the tumors and livers of tumor-bearing mice. The dynamical properties of IMM were determined using the fluorescent probe – pyrene and the method of tryptophan fluorescence quenching with acrylamide. The respiratory activity of mitochondria was estimated in MTT-test procedure. In the tumor extracts and in the plasma of tumor-bearing mice the contents of tiobarbiturate-active products (TBAP) and activity of catalase (Cat) were determined. The obtained results were statistically analyzed.

The obtained results give the evidence that the tumor size was significantly decreased in mice treated with SDA as compared to the control animals with tumors (0.79 ± 0.26 and 3.11 ± 0.77 mm³, respectively) that indicates the antitumor effect of SDA on sarcoma 37 *in vivo*. It was shown that SDA facilitates the decrease in microviscosity of annular lipids by 34% ($P < 0.05$), the increase of tryptophanic fluorescence by 24% ($P < 0.05$) followed by the decrease of protein molecules rigidity by 43% ($P < 0.05$) and increase of the tryptophanyl residues availability to the quencher by 61% ($P < 0.05$) in the IMM from tumor of mice treated with SDA in comparison with the IMM from sarcoma 37 tumors of untreated mice. The obtained data testify that SDA induces the significant changes in the regions of IMM covering the protein molecules and their lipid surroundings in sarcoma 37 cells. The respiratory chain activity evaluated in MTT-test was increased by 140% ($P < 0.05$) in sarcoma 37 tumors under SDA action in comparison with the tumors of untreated mice. It was also shown the increase of succinate dehydrogenase activity by 20% ($P < 0.05$) in

the IMM from tumors of mice treated with SDA in relation to the tumors of the control mice. The level of TBAP contents was detected to be increased by 65% ($P < 0.05$) on the background of the decreased by 43% ($P < 0.05$) Cat activity in the extracts of sarcoma 37 under treatment with SDA comparatively to the control values. The increase of TBAP level by 95% ($P < 0.05$) and the increase of Cat activity by 146% ($P < 0.05$) were demonstrated for blood plasma of tumor-bearing mice treated with SDA in comparison to the control values.

Thus, SDA leads to the structural and functional modifications in IMM from sarcoma 37, to the increase of lipid peroxidation intensity that could be involved in the mechanisms of antitumor action of this substance that requires the further study.

ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИГІСТОНОВИХ АНТИТІЛ СИРОВАТКИ КРОВІ ХВОРИХ НА СИСТЕМНИЙ ЧЕРВОНИЙ ВОВЧАК, А ТАКОЖ МОЛОКА КЛІНІЧНО ЗДОРОВИХ ПОРОДІЛЬ

*СТАРИКОВИЧ М. О., МАГОРІВСЬКА І. Б., БІЛИЙ Р. О.,
СТОЙКА Р. С., КІТ Ю. Я.*

*Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: marina_s76@mail.ru; yuyakit@yahoo.com*

Відомо, що поява у сироватці крові хворих на системний червоний вовчак (СЧВ) антинуклеарних автоантитіл (авто-АТ) тісно пов'язана із розвитком цього захворювання. Серед антинуклеарних авто-АТ особливе місце займають антитіла із спорідненістю до ДНК (анти-ДНК АТ) та гістонів (антигістонові АТ) оскільки їхній вміст корелює із тяжкістю перебігу СЧВ. Встановлено, що анти-ДНК АТ володіють нуклеазною активністю і належать до каталітично активних антитіл (абзимів). Абзими із подібною активністю також було виявлено в молоці клінічно здорових жінок. Раніше нами було показано (Kit Y. Y. et al., Biochemistry (Mosc), 2008 Aug 73(8)), що в сироватці крові хворих на СЧВ, розсіяний склероз і у молозиві здорових породінь присутні каталітично активні антитіла, здатні гідролізувати гістон H1. Ми припустили, що в сироватці крові хворих на СЧВ і молоці клінічно здорових донорів присутні протеолітично активні антигістонові авто-АТ, здатні гідролізувати гістон H1 і деякі інші позитивно заряджені протеїни.

Мета роботи — виділити із сироватки крові хворих на СЧВ, а також із молока клінічно здорових жінок антигістонові АТ і дослідити їхню антигенну специфічність і протеолітичну активність.

АТ виділяли із сироватки крові і молока хроматографією на протеїн G-сефарозі (IgG) і протеїн А-агарозі. Антигістонові АТ очищали хроматографією на гістон H1-сефарозі. Антигенну специфічність визначали дот-блот і вестерн-блот аналізом. Як антигени і субстрати протеазної реакції використовували гістон H1, корові гістони, основний протеїн мієліну (ОБМ), лізоцим, БСА та деякі інші протеїни. Протеолітичну активність антитіл визначали електрофорезом у 12% ПААГ за присутності 0,1% Ds-Na.

Із сироватки крові хворих на СЧВ та із молока клінічно здорових жінок за допомогою послідовної афінної хроматографії очищено антигістонові АТ класу IgG і sIgA. Встановлено, що авто-АТ обох субкласів перехресно реагують із позитивно зарядженими протеїнами і здатні гідролізувати гістон H1 та основний протеїн мієліну. Гель-фільтрацією за умов високоефективної рідинної хроматографії підтверджено, що протеолітична активність властива молекулам АТ, а не домішкам ензимів.

Показано, що в сироватці крові хворих на СЧВ і в молоці клінічно здорових породіль присутні низько афінні антигістонові АТ, здатні руйнувати гістон H1 і основний протеїн мієліну. Виявлені каталітично активні АТ є першим випадком протеолітичних абзимів із двосубстратною специфічністю.

ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ПОСТРАДАВШИХ С РАЗНОЙ ТЯЖЕСТЬЮ ТРАВМЫ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА

СТЕПУРА А. В., ДОНЧЕНКО Л. И.

*НИИ травматологии и ортопедии Донецкого национального
медицинского университета им. М. Горького, Украина;
e-mail: astepura@meta.ua*

Цель работы — изучить особенности изменений содержания липидов и продуктов их перекисидации в зависимости от тяжести и характера травмы у пострадавших.

У 18 пострадавших с изолированными закрытыми переломами длинных костей нижних конечностей (1-я группа), у 14 — с множественными травмами конечностей (2-я группа), у 14 — с сочетанной травмой (3-я группа) на 3-, 7- и 14-е сут. после травмы определяли в сыворотке крови содержание триглицеридов, холестерина, фракций липопротеидов и активность диеновых конъюгатов жирных кислот. Контрольную группу составили 15 практически здоровых лиц.

Установлено, что изолированная травма конечностей не вызывает статистически значимых изменений показателей липидного обмена на протяжении всего периода исследования.

Тяжелая множественная травма конечностей сопровождается шоком и большим объемом повреждения костной и мышечной тканей и обусловлена повышенной потребностью организма в энергетических субстратах. В данной группе пострадавших на фоне активных процессов перекисидации липидов, особенность содержания липидов в остром периоде травмы (3-и сут.) заключалась в увеличении в сыворотке крови содержания триглицеридов и снижении уровня холестерина. На 7-е и 14-е сут. (на фоне активных процессов перекисидации липидов у части пострадавших содержание холестерина оставалось на уровне острого периода травмы, но у большинства имело тенденцию к нормализации. Изменения в содержании липидов у пострадавших, сохраняемые на протяжении всего периода исследования, характерны для системного воспалительного ответа на тяжелую травму и свидетельствуют о его выраженности.

В групі постраждалих з сочетаною травмою, у яких помимо шокowego стану і пошкоджень (характерних для 2-ї групи), мала черепно-мозгова травма, особливості змін обміну ліпідів характеризувалися більш вираженими, ніж у хворих 2-ї групи, процесами пероксидації ліпідів. У хворих даної групи на 3-й і 7-й сут. після травми відзначено підвищення в сироватці крові ліпопротеїдів дуже низької щільності і тригліцеридів, показники яких були статистично вище як по відношенню до норми, так і по відношенню до показників хворих 2-ї групи. Динаміка рівня холестеролу в сироватці крові постраждалих характеризувалася зниженням в гострому періоді травми і нормалізацією до 14 сут.

Таким чином, зміни вмісту в сироватці крові ліпідів і продуктів їх пероксидації у постраждалих з травмою опорно-двигального апарату залежать від тяжкості і характеру травми, а відповідно від ступеня вираженості системного запального відгуку.

ВПЛИВ КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІЮ НА АКТИВНІСТЬ ДІАГНОСТИЧНИХ ЕНЗИМІВ ПЕЧІНКИ У МОДЕЛІ ПУХЛИННОГО РОСТУ

СУПОНЬКО Ю. В., ШТЕМЕНКО Н. І.

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

У попередніх роботах було показано гепатопротекторний ефект кластерних сполук ренію внаслідок введення системи реній-платина (Re-Pt) у наноліпосомній формі щурам-пухлиноносіям. Проте, залишається відкритим питання, чи залежать гепатопротекторні властивості кластерних сполук ренію від форми введення системи та від їхніх протипухлинних властивостей. Отже, метою даної роботи було дослідити дію кластерних сполук ренію з β -аланіновими лігандами у разі введення системи у наноліпосомній та водорозчинній формах на стан печінки щурів. Суспензія клітин карциноми Герена Т8 перешеплювалася методом підшкірного введення в ділянку стегна задньої кінцівки. Тваринам вводили розчин цис-платину (сPt) одноразово, та β -аланіновий ліганд в водорозчинній і наноліпосомній формах. Сполуки ренію вводили десятиразово за схемою антиоксидантної терапії. Визначали активність аланін- та аспарагінамінотрансфераз (АлАТ, АсАТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), лужної фосфатази (ЛФ) та гамма-глутаміл-транспептидази (ГГТ) у крові та гомогенаті печінки. Встановлено, що за введення системи сPt з β -аланіновим лігандом як у наноліпосомній, так і у водорозчинній формах, спостерігалось зниження ферментативної активності маркерних ензимів: АлАТ (до 28%), АсАТ (до 21%), ЛДГ (до 10%), ЛФ (до 79%), ГГТ (до 31%) у порівнянні з групою яка отримувала цис-платину відповідно. Внаслідок цього, не дивлячись на те, що протипухлинні властивості системи, в якій усі компоненти вводилися у вигляді розчину, були набагато менші (редукція пухлини на 48%) порівняно з групою, де β -аланіновий ліганд вводився у наноліпосомній формі (редукція пухлини на 98%), стан печінки згідно ферментативної активності діагностичних ензимів був ближ-

че до норми у першій групі. Отже, доведено, що гепатопротекторні властивості кластерних сполук ренію здебільшого не залежать від їхньої форми введення та виявляються незалежно від їхніх протипухлинних властивостей.

ЦИТОТОКСИЧНІ ЛЕКТИНИ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ ЯК ІНДУКТОРИ ПРОТИПУХЛИННОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ

ТАНАСІЄНКО О. А., РУДИК М. П., ПОТЕБНЯ Г. П.

*Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;
e-mail: iris@onconet.kiev.ua*

Участь лектинів у процесах регуляції міжклітинних взаємодій, які обумовлюють пізнавання партнерів за умов утворення різноманітних біогенних груп, доведена. Сигнальна дія лектинів різного походження сприяє підвищенню імунореактивності організму, за рахунок чого останній може протидіяти виникненню злоякісних пухлин і поширенню метастатичного процесу після їхнього хірургічного видалення.

Метою даної роботи було дослідження превентивного протипухлинного ефекту позаклітинних цитотоксичних лектинів, виділених із мікробної культури *B. subtilis* В-7025 на моделях експериментальних пухлин саркоми 37, раку Ерліха та метастазуючої карциноми легені Л'юїса.

Показано, що введення бактеріального лектину інтактним мишам викликає у них протипухлинну резистентність до прищеплених пухлинних клітин; при цьому зростає латентний період виникнення пухлин, гальмується їх ріст та збільшується тривалість життя тварин. Досліджено оптимальні умови кратності профілактичних ін'єкцій лектину, у разі яких у мишей досягається максимальний протективний протипухлинний ефект. Передопераційне введення лектину мишам з прищепленою карциномою легені Л'юїса викликає у них значний антиметастатичний ефект.

Одержані результати свідчать про активуючий ефект цитотоксичних лектинів на різні ланки імунологічних та біохімічних реакцій тварин.

РОЛЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ТА ЛЕПТИНУ У ПАТОГЕНЕЗІ ОЖИРІННЯ У ВАГІТНИХ

ТАРАСЕНКО К. В.

*Вищий державний навчальний заклад України «Українська
медична стоматологічна академія», Полтава;
e-mail: kons-tarassenko@yandex.ru*

Мета дослідження — вивчити роль прозапальних цитокінів — фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП- α), С-реактивного протеїну (СРП) та гормону жирової тканини лептину в патогенезі ожиріння у вагітних жінок.

Обстежено 76 вагітних з ожирінням I–II ступеня у третьому триместрі вагітності. Контрольну групу склали 38 вагітних з нормальною масою тіла. У сироватці крові визначали вміст ФНП- α та СРП методом імуноферментного аналізу (тест системи Diaclone, Франція) та Diagnostic Automation Inc., США). Вміст лептину у сироватці крові визначали за допомогою набору (DRG, США) з використанням анти-лептин антитіл. Інтенсивність окислювального стресу оцінювали на підставі рівня окислювальної модифікації протеїнів (ОМП) [Дубинина Е. Е. і соавт., 1995]. Ожиріння у вагітних діагностували згідно методу Н.С.Луценко (1986).

Нами встановлено, що у вагітних з ожирінням спостерігається достовірне підвищення вмісту ФНП- α в 9,9 раза та СРП — в 1,5 раза у сироватці крові порівняно з контрольною групою вагітних ($P < 0,05$). ФНП- α розглядають як ранній маркер системної реакції та як фактор ризику розвитку метаболічного синдрому [Юбицкая Н. С. і соавт., 2009].

За нашими даними, ожиріння у вагітних супроводжується вірогідним підвищенням у 1,7 раза рівня лептину відносно контролю ($P < 0,05$). Цей гормон жирової тканини підсилює продукцію супероксидного аніон-радикалу та пероксинітриду [Корда М. М. і співавт., 2009]. Вірогідно, даний механізм і визначає достовірне підвищення на 27,9% ОМП у вагітних з ожирінням порівняно з контрольною групою жінок ($P < 0,05$). ОМП відіграє ключову роль в молекулярних механізмах окислювального стресу [Губский Ю. И. і соавт., 2005]. Отже, зростання рівня ФНП- α , СРП та лептину у сироватці крові вагітних з ожирінням асоціюється з підвищенням ОМП. За цих умов у вагітних з ожирінням значно частіше виникають ускладнення вагітності та пологів (невиношування вагітності, гестози, дисфункція плаценти, аномалії скоротливої діяльності матки) порівняно з вагітними з нормальною масою тіла.

Таким чином, прозапальні цитокіни ФНП- α , СРП та адипокін лептин беруть участь у розвитку взаємопов'язаних порушень у разі ожиріння у вагітних — системної запальної реакції та окислювального стресу, що підвищує ризик розвитку ускладнень вагітності.

РОЛЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ВИРАЗКОУТВОРЕННІ ШЛУНКА ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ

ТАРАСЕНКО Л. М., ОМЕЛЬЧЕНКО О. Є.

*Вищий державний навчальний заклад України «Українська
медична стоматологічна академія», Полтава;
e-mail: bcp-r@i.ua*

Мета роботи — дослідити роль вазоактивних речовин у виразкоутворенні та захисній функції слизового гелю шлунка за умов гострого стресу (ГС) залежно від стресостійкості щурів. Об'єктами дослідження були шлунок та кров щурів. Експерименти виконані на 36 статевозрілих щурах-самцях Вістар масою 170–220 г. ГС моделювали за методом Г. Сельє (1960). Типологічні особливості тварин визначали у нейроетологічному тесті „відкрите поле” із застосуванням факторно-аналітичного методу, розподіляючи щурів на два типи: стресостійкі та стресонестійкі. Евтаназію тварин здійснювали шляхом кровопускання під гексеналовим наркозом через 2 години після завершення стресорного впливу. Ступінь виразкового ушкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) оцінювали за методом М. Г. Пшенникової (2002). В гомогенаті СОШ визначали вміст мономерів глікопротеїнів (ГП) N-ацетилнейрамінової кислоти (Колб В. Г., 1976) та фукози незв'язаної з протеїнами (Шараев П. Н., 1997), а також вміст метаболітів оксиду азоту — нітритів (Голиков П. П. и соавт., 2004). Рівень ендотеліну-1 (ЕТ-1) в гомогенаті СОШ визначали імуноензимним методом за допомогою набору (DRG, США). Морфо- та стереометричну оцінку мікроциркуляторного русла та кровотоку стінки шлунка проводили методом «полів» (Автандилов Г. Г., 1996). Отримані результати піддавали статистичному аналізу з використанням критерію t-Стюдента. Нами встановлено, що виразкоутворення та ступінь катаболізму ГП — підвищення вмісту мономерів, що входять до складу шлункового слизу, у щурів стресонестійкого типу був вищим порівняно з тваринами стресостійкого типу реагування. Частота виразок у стресованих тварин стресонестійкого типу за умов ГС становила 100%, а в групі стресостійких щурів — 67% ($P < 0,05$). Кардинальну роль у розвитку стресорних ушкоджень шлунка відіграє дисфункція ендотелію судин. За нашими даними, у щурів стресонестійкого типу вміст ЕТ-1 у СОШ за умов ГС достовірно підвищився на 62,5%, а у тварин стресостійкого типу він становив 48,5% по відношенню до контролю ($P < 0,05$). Про знижений синтез оксиду азоту ендотеліоцитами судинного русла СОШ за умов ГС опосередковано свідчить зменшення в 1,6 та 1,9 раза вмісту нітритів у слизовому гелі шлунка у щурів стресонестійкого та стресостійкого типу, порівняно з контролем ($P < 0,05$). Таким чином, ГС ініціює розвиток редукції кровотоку в слизовому та підслизовому шарах шлунка, що асоціюється зі ступенем тяжкості виразок шлунка та залежить від стресостійкості щурів.

ДОСЛІДЖЕННЯ РАДІОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГІДРАТОВАНОЇ ФОРМИ НЕМОДИФІКОВАНОГО ФУЛЕРЕНУ C₆₀

ТИХОМИРОВ А. О., НЕДЗВЕЦЬКИЙ В. С., БОРИСЕНКО М. Б.,
ПРИЩЕПА І. В., ГАЛЕНКО О. П., ЛЕВАШОВА Н. С.,
СОЛЯНИК І. В.

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: shurupik718@mail.ru*

Дослідження та пошук сполук, що мають радіопротекторні властивості тривалий час залишається актуальним у зв'язку з розвитком сучасних технологій. Останнім часом показано, що гідратовані фулерени (HyFn C₆₀) здатні захищати нативні біологічні структури від дії реакційноактивних агентів та їх ушкоджуючих ефектів. Враховуючи той факт, що ушкоджуючі ефекти іонізуючого випромінювання опосередковані генерацією вільних радикалів та розвитком окисного стресу, тестування немодифікованого фулерену в якості радіопротектору є перспективними і актуальними.

Тестування радіопротекторних властивостей HyFn C₆₀ за умов рентгенівського опромінення у сублетальній дозі проводили шляхом визначення показників окисного стресу та маркеру астрогліозу — гліального фібрилярного кислого протеїну (ГФКП).

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар. Розвиток окисного стресу визначали за вмістом ТБК-активних сполук та карбонильованих протеїнів, вміст і склад поліпептидних фрагментів ГФКП — методом імуноблотингу.

В групі тварин, які одержували сублетальну дозу опромінення був достовірно вищий вміст ТБК-активних сполук та карбонильованих протеїнів ($P < 0,01$ та $P < 0,05$ відповідно). Вміст ГФКП в гіпокампі і корі був також достовірно знижений ($P < 0,05$) відносно контрольної групи. Відсоток розчинного ГФКП в корі великих півкуль і гіпокампі суттєво зростав (у 2,3 та 3,3 раза відповідно, $P < 0,001$). Вміст деградованих фрагментів ГФКП був також значно вищий.

Порівняльний аналіз опроміненої групи і групи тварин, які після опромінення отримували HyFn C₆₀ у концентрації (1 мг/кг маси тіла), показав значне зниження показників окисного стресу. У першу добу, після опромінення та введення фулерену, вміст ТБК-активних сполук складав 63,9 нмоль/мг тканини, на 14-ту добу він дорівнював 43,2 нмоль/мг тканини. У порівнянні з контролем, який складає 19,45 нмоль/мг тканини, показник на 14-ту добу підвищився більш ніж у два рази. Вміст карбонильованих протеїнів на першу добу складав 89,1 нмоль/мг тканини. Кількість цих протеїнів на 14-ту добу зменшилась порівняно з результатами на першу добу і дорівнювала 71 нмоль/мг тканини, проте залишилась досить високою (більш ніж у 3 рази) порівняно з контролем, який дорівнює 19,9 нмоль/мг тканини.

Зміни кількості розчинної і філаментної форми ГФКП, вміст деградованих фрагментів практично співпадали з показниками контрольної групи.

Отримані дані свідчать про те, що HyFn C₆₀ є ефективним радіопротектором, який хоча і не приводить до норми маркери окисного стресу, але суттєво знижує. Це може бути пов'язано з тим, що для прояву ефективної радіопротекторної дії

необхідно, щоб захисні агенти були присутні під час опромінення і знаходились у достатній близькості від критичних місць радіаційного ушкодження.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ТРАНСФУЗІЇ АВТОЛОГІЧНОЇ ПУПОВИННОЇ КРОВІ В НЕОНАТАЛЬНІЙ КАРДІОХІРУРГІЇ

*ТКАЧЕНКО Я. В., ФЕДЕВИЧ О. М., ЧАСОВСЬКИЙ К. С.,
ЖОВНІР В. А., СІДРИК Л. Л., ВОРОБІЙОВА Г. М.,
ЄМЕЦЬ І. М.*

*ДУ «Науково-практичний медичний центр дитячої
кардіології та кардіохірургії» МОЗ України, Київ;
e-mail: yani_t2008@ukr.net;*

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ

Пуповинна кров, як відомо, є цінним джерелом біологічно активних речовин та стовбурових клітин. Вона широко застосовується в клінічній практиці, зокрема важливим напрямом її застосування є автологічна трансфузія в лікуванні анемії у недоношених дітей. Неонатальна кардіохірургія зі штучним кровообігом (ШК) потребує використання донорської крові. Зважаючи на це, нами пропонується використання автологічної пуповинної крові в хірургії вроджених вад серця (ВВС) у новонароджених.

Метою роботи було вивчити молекулярно-біологічний склад крові у новонароджених з критичними ВВС після трансфузії автологічної пуповинної крові під час операції на серці з використанням ШК.

Дослідження проводили на двох групах пацієнтів: 11 новонароджених з ВВС, яким під час хірургічної корекції проводили трансфузію автологічної пуповинної крові (1-а група) і 10 пацієнтів з ВВС, у яких використовували донорську кров (2-а група). Досліджували периферичну кров до та після хірургічної корекції ВВС у динаміці. Визначали концентрацію фетального гемоглобіну та рівень автоантитіл до протейнів теплового шоку (Hsp60) як показника регуляції гомеостазу.

У пацієнтів 1-ої групи у до- та післяопераційний періоди не спостерігали суттєвих змін рівня фетального гемоглобіну ($86 \pm 8\%$), тоді як у 2-й групі відмічали зниження рівня фетального гемоглобіну з $86 \pm 7,6$ до $29 \pm 2\%$, внаслідок трансфузії донорської (дорослої) крові. При цьому, в 1-й групі встановлено достовірне зниження рівня Hsp60 у післяопераційному періоді в 2,5 раза, тоді як у 2-й групі рівень протейнів Hsp60 збільшився у 2,5 раза за умов однакового вихідного підвищеного рівня.

Зниження рівня фетального гемоглобіну у новонароджених у післяопераційному періоді є маркером масивної гемотрансфузії донорської крові. Зниження рівня Hsp60 у пацієнтів 1-ої групи після трансфузії пуповинної автокрові свідчить про фізіологічність її впливу та покращення процесів регуляції клітинного метаболізму у дітей з ВВС, що підлягають кардіохірургічній корекції.

РІЗНОСПРЯМОВАНА РОЛЬ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА EGR-1 В МЕХАНІЗМАХ АДАПТАЦІЇ ШЛУНКА ТА ТОВСТОЇ КИШКИ ДО ДІЇ СТРЕСУ

ТОЛСТАНОВА Г. М., КУХАРСЬКИЙ В. М.,
БЕРЕГОВИЙ С. М., АФІЦЬКА К. І.,
БЕРЕГОВА Т. В.

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

Стрес є важливим чинником виникнення рецидивів та загострення симптомів хвороб шлунково-кишкового тракту (ШКТ) (виразка шлунка, виразковий коліт). В попередніх дослідженнях було показано роль редокс-чутливого транскрипційного фактора Egr-1 в захисних механізмах при цистеамін-викликаних виразках дванадцятипалої кишки та хімічно-викликаному виразковому коліті. Метою даної роботи було дослідити зміни експресії протеїну Egr-1 у слизовій оболонці шлунка та товстої кишки щурів за умов дії стресу різної тривалості. Щурів-самців лінії Вістар (150–190 г) піддавали дії водно-імобілізаційного (ВІ) стресу тривалістю 20 хв, 1 та 3 год, після чого їх миттєво умиротворяли. Рівень експресії протеїнів Egr-1, Erk1/2, pErk1/2 (Tyr204) вимірювали Вестерн блотинг. У щурів підданих дії ВІ стресу, тривалістю 20 хв та 1 год, виникали крововиливи в слизовій оболонці шлунка. 3-годинна дія ВІ стресу спричиняла розвиток виразок шлунка. Ми не спостерігали макроскопічних змін в слизовій оболонці товстої кишки щурів за умов дії ВІ стресу. ВІ стрес тривалістю 20 хв (передвиразковий стан) викликав статистично вірогідне підвищення (з $52,9 \pm 7,7$ до $63,6 \pm 4,0$ ум. од., $P \leq 0,01$) експресії протеїну Egr-1 та поступове його зниження в слизовій оболонці шлунка зі збільшенням тривалості дії ВІ стресу (1 год – $46,8 \pm 2,9$ ум.од., $P \geq 0,05$ та 3 год – $30,2 \pm 2,7$ ум.од., $P \leq 0,001$). Активація Erk1/2/МАР-кіназного шляху є основним механізмом запуску транскрипції Egr-1. У наших дослідженнях рівень активації pErk1/2 позитивно корелював з рівнем експресії Egr-1 та був вірогідно підвищеним в слизовій оболонці шлунка щурів на фоні 20-ти хв дії ВІ стресу ($P \leq 0,05$). Рівень експресії загального протеїну Erk1/2 залишався без змін у всіх групах щурів. ВІ стрес викликав протилежний ефект в слизовій оболонці товстої кишки щурів. Так, 20-ти хв дія стресу викликала вірогідно значуще зменшення експресії протеїну Egr-1 (з $87,7 \pm 6,1$ до $37,5 \pm 33,0$ ум. од., $P \leq 0,05$) та повернення його майже до контрольного рівня на фоні 1 год дії ВІ стресу ($63,3 \pm 30,0$ ум. од.). Аналогічна картина спостерігалась в рівні активації pErk1/2, тоді як рівень експресії загального протеїну Erk1/2 залишався без змін. Отже, вперше показано різнонаправлену роль траскрипційного фактора Egr-1 у механізмах адаптації шлунка та товстої кишки до дії стресу. Встановлено, що активація Erk1/2/МАР-кіназного шляху бере участь у запуску транскрипції Egr-1 у шлунку та товстій кишці за умов дії стресу.

КОРЕГУВАННЯ ОБМІНУ БІЛІРУБІНУ ФОСФОЛІПІДОВМІСНИМИ ПРЕПАРАТАМИ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕПАТИТУ

ТОМЧУК В. А., ГРИЩЕНКО В. А., ЛИТВИНЕНКО О. М.

*Національний університет біоресурсів і природокористування
України, Київ*

Фосфоліпидовмісні препарати широко використовуються в гепатології як засоби репаративної дії. Метою роботи було дослідження пігментоутворювальної функції печінки щурів у разі застосування препаратів на основі фосфоліпідів різного походження.

Для проведення експериментальних досліджень використовували білих лабораторних щурів-самців масою тіла 180–200 г. Тварин розділяли на групи по десять тварин у кожній. До контрольної групи відносили інтактних щурів. Медикаментозну форму гепатиту викликали шляхом перорального застосування препарату «Диклофенак». Після моделювання у щурів медикаментозного гепатиту, впродовж 50 діб тваринам вводили фосфоліпидовмісні препарати: біологічно активну добавку (БАД) FLP-MD і препарат «Есенціале-форте».

Застосування препарату «Есенціале-форте» дещо знижує тяжкість прояву токсичного гепатиту у щурів, через це підвищується у крові вміст білірубину диглюкуроніду — на 55,3%, без позитивних зрушень залишається рівень сумарної фракції білірубину моноглюкуроніду та білірубину моноглюкозиду, за одночасного зростання вмісту окремої фракції білірубину глюкуроніду — на 54,4%. У випадку введення БАД FLP-MD відмічається відновлення в крові кількісних характеристик більшості похідних білірубину, що може свідчити про посилення детоксикаційних процесів у печінці та усунення явища холестазу. Водночас застосування щурам препарату «Есенціале-форте» та БАД FLP-MD супроводжується поверненням до контрольного рівня досліджуваних показників у вмісті кишечника, що підтверджує відновлення жовчовивідної функції печінки у разі їхнього введення хворим тваринам. Застосування тваринам препарату «Есенціале-форте» супроводжується вірогідним зменшенням у калових масах вмісту вільного білірубину і білірубину сульфату за одночасного відновлення рівня інших показників. У щурів, які отримували БАД FLP-MD, встановлено відновлення кількісних характеристик майже всіх досліджуваних показників, що свідчить про поліпшення ферментативного перетворення білірубину до кінцевих продуктів пігментного обміну, які виділяються з організму і фарбують калові маси у природний темно-коричневий колір. Отже, застосування фосфоліпидовмісних засобів позитивно впливає на кількісні характеристики показників пігментного обміну. Проте повне їх відновлення відмічається у хворих тварин внаслідок введення БАД FLP-MD.

АКТИВНІСТЬ 2'-5'-ОЛІГОАДЕНІЛАТ-СИНТЕТАЗИ В РІЗНИХ ОРГАНАХ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ ФОРМ КВЕРЦЕТИНУ

ТОРГАЛО Є. О., КОМПАНЕЦЬ І. В., ОСТАПЧЕНКО Л. І.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: alisa210@meta.ua*

Геморагічний інсульт є одним із найпоширеніших та найнебезпечніших серцево-судинних захворювань. Летальність у гострому періоді становить 40–70% залежно від важкості крововиливу. У профілактиці і лікуванні в післяінсультному періоді застосовують фармакологічні препарати, спрямовані на метаболічний захист мозку, зокрема різні форми кверцетину.

У відповідь на формування та розвиток патологічного стану в першу чергу реагує імунна система. Важливим маркером розвитку запального процесу є система інтерферону, ключовим ензимом якої є 2',5'-олігоаденілат-синтетаза. Відомо, що рівень інтерферону суттєво підвищується при виникненні інсульту, в той же час залишаються нез'ясованими внутрішньо-молекулярні механізми виникнення подібних змін інтерферон індукованої системи 2',5'-олігоаденілат-синтетази. У зв'язку з цим є актуальним вивчення каскаду 2',5'-олігоаденілату в клітинах тварин за умов розвитку експериментальної моделі геморагічного інсульту на фоні введення кверцетину.

Геморагічний інсульт у щурів викликали шляхом введення у внутрішню капсулу головного мозку автогенної крові. Кверцетин вводили перорально, а ліпофлавіон внутрішньовенно (10 мг/кг) протягом 7 днів. Активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази визначали спектрофотометричним методом за кількістю неорганічного пірофосфату.

Встановлено, що в умовах розвитку геморагічного інсульту активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази знижується в мозку, селезінці та нирках порівняно з контролем. Вивчення впливу кверцетину та ліпофлавіону на активність ензиму в досліджуваних органах показало, що за умов введення препаратів відбувалась нормалізація дослідженого показника.

Таким чином, можна передбачити залучення системи 2',5'-олігоаденілату у молекулярні механізми формування відповіді імунної системи на розвиток геморагічного інсульту. Стимуляцію активності ключового ензиму даної системи можна розглядати як прояв захисних процесів. Крім того, слід врахувати можливість функціонування каскаду 2',5'-олігоаденілату поза системою інтерферону, оскільки існують дані про зв'язки з іншими регуляторними системами в імунокомпетентних клітинах.

ЕКСПРЕСІЯ РЕЦЕПТОРНИХ ТИРОЗИНКІНАЗ В АДРЕНОКОРТИКАЛЬНІЙ ТКАНИНІ ЛЮДИНИ ЗА НОРМИ ТА ПАТОЛОГІЇ

ТРОНЬКО М. Д., КОВЗУН О. І., КОСТЮЧЕНКО Н. М.,
ЛУКАШЕНЯ О. С., МИКОША О. С.

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», Київ;
e-mail: kovzun@newmail.ru

Життєвий цикл клітин та їхня фізіологічна активність регулюються на системному рівні та мікрооточенням, в значній мірі з використанням різноманітних рецепторних систем. У клітинах широко представлені рецепторні і цитоплазматичні фосфотирозинові протеїнкінази. Зараз активно обговорюються факти щодо фенотипічного зв'язку експресії рецепторних тирозинкіназ (РТК) у клітині зі злоякісною трансформацією і метастатичним потенціалом тканини. Ми провели оцінку експресії мРНК РТК у пухлинах та умовно нормальній тканині надниркових залоз людини за допомогою зворотної транскрипції – полімеразної ланцюгової реакції (RT-PCR).

У результаті проведеної роботи були одержані нативні, високоочищені препарати РНК з гормонально неактивних пухлин надниркових залоз, альдостером, кортикостером, адренокортикальних аденом, андробластоми, кортикобластоми, кортикоандробластоми, аденокарциноми, а також з умовно нормальних ділянок означених тканин. Виділена РНК мала співвідношення A260/A280 у межах 1,85–2,0, що вказує на незначний вміст протеїну та інших домішок у препаратах РНК. Додатково проводився аналіз нативності, цілісності виділеної РНК методом електрофорезу на біочипах (біоаналізатор Agilent 2100).

Співвідношення між кількістю 18S та 28S РНК складає в середньому близько 1, а індекс інтегрованості – близько 7, що є хорошим показником, хоча і вказує на деяку деградацію матеріалу. За допомогою RT-PCR досліджено експресію мРНК РТК у 22 випадках пухлин та з позапухлинної умовно нормальної тканини надниркових залоз.

Експресія в злоякісних пухлинах є найбільш вираженою і відрізняється від експресії мРНК РТК в доброякісних пухлинах надниркових залоз (експресія спостерігалась тільки в одному випадку гормонально активної аденоми – альдостероми). Визначення експресії РТК за допомогою RT-PCR може вважатись методом диференційної діагностики злоякісності пухлин надниркових залоз. Використання цього методу може бути перспективним для діагностики карцином адренокортикальної тканини.

Таким чином, стає очевидним перспективність дослідження експресії РТК у різних типах пухлин. Подібний підхід може наблизити нас до об'єктивного визначення відмінностей між доброякісними та злоякісними пухлинами та розробки нових методів діагностики.

ВМІСТ МІКРО- ТА МАКРОЕЛЕМЕНТІВ У БІООб'ЄКТАХ РІЗНИХ БІОГЕОХІМІЧНИХ ЗОН ЗАКАРПАТСЬКОЇ ОБЛАСТІ

ФАБРИ З. Й., ФЕРА О. В., ПІРОГОВА В. Г.

*Ужгородський національний університет, Україна;
e-mail: fabryzolt@gmail.com*

Дисбаланс деяких мікро-та макроелементів має пряме відношення до посилення або зниження проявів йодного дефіциту, до виникнення та розвитку тиреоїдної патології, тим паче, що йодні добавки не завжди призводять до ефективної ліквідації ендемічного зобу.

Нами проаналізовано особливості поширення важливіших мікро- та макроелементів у ґрунті та харчових продуктах трьох біогеохімічних зон області: гірської та передгірської (з помірним ступенем йодної недостатності) і низинної (з легким ступенем йодного дефіциту).

Проведений аналіз свідчить, що вміст вказаних елементів у ґрунті суттєво нижчий у гірській та передгірській зонах, ніж у низинних районах. Особливо низькі показники відмічені стосовно вмісту магнію, марганцю, фтору, йоду, міді, нікелю та молібдену. Щодо кальцію, бром, кобальт, бор та хром, то зниження їхнього вмісту у ґрунті гірських та передгірських районів порівняно з показниками низинної зони менш виражено.

Встановлено дефіцит мікро- та макроелементів у харчових продуктах рослинного та тваринного походження гірської і передгірської зон по відношенню до їхнього вмісту у продуктах низинної зони. Причому, найвищі концентрації встановлені у низинній, нижчі – у передгірській і найвищі – у гірській зоні. Так, вміст кальцію був достовірно нижчим у картоплі, капусті, ягодах, м'ясі та молоці, магнію – у всіх продуктах, крім молока, марганцю – у картоплі, ягодах і м'ясі, бром – у всіх продуктах, крім квасолі і молока, фтору – лише у квасолі і ягодах, міді – у ягодах, м'ясі та молоці, хрому – у картоплі, капусті, молоці та м'ясі, йоду – у всіх продуктах, крім яєць, бору – у всіх продуктах, крім яєць, кобальту – у всіх продуктах, крім молока, молібдену – у картоплі, капусті, квасолі та яйцях, нікелю – у всіх продуктах, крім м'яса і яєць, цинку – у всіх продуктах.

Одержані результати вказують на суттєвий дефіцит мікро- та макроелементів у більшості харчових продуктів у гірських та передгірських районах по відношенню до показників у низинній зоні. Виявлені особливості розповсюдження вказаних елементів мають пряме відношення до поширення різних форм патології щитоподібної залози, посилюючи зобогенний ефект йодного дефіциту у жителів різних біогеохімічних зон області.

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ У РАЗІ ДІЇ ПОХІДНОГО МАЛЕІМІДУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ ТОВСТОГО КИШЕЧНИКА У ЩУРІВ

ФІЛІНСЬКА О. М., ЯМШАНОВА О. Ю., ЯБЛОНСЬКА С. В.,
КОТЛЯР І. П., ОСТРОВСЬКА Г. В., РИБАЛЬЧЕНКО В. К.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: filinska@inbox.ru

Розвиток злоякісних пухлин, в тому числі колоректальних, супроводжується оксидативним стресом внаслідок накопичення великої кількості активних форм кисню. Важливим чинником, від якого залежить концентрація вільних радикалів у клітинах організму, є кооперативна робота ензимів антиоксидантної системи, однією із ланок якої є глутатіонова система. Потенційною сполукою для лікування онкологічних захворювань є похідне малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон (МІ-1), що створений за допомогою *in silico* дизайну вченими Київського національного університету імені Тараса Шевченка як високоселективний інгібітор протеїнкіназ. Встановлено виражену антипроліферативну активність МІ-1 на культуру клітин аденокарциноми товстого кишечника SW620.

Метою роботи є дослідження дії похідного малеїміду на вміст відновленого глутатіону (ВГ), активність глутатіонпероксидази (ГПО) та глутатіонтрансферази (ГТ) печінки та слизової оболонки товстого кишечника внаслідок індукованого 1,2-диметилгідразином (ДМГ) канцерогенезу товстого кишечника у щурів.

МІ-1, розчинений в соняшниковій олії, вводили інтрагастрально щодня протягом 20 тижнів у дозі 0,027 мг/кг та 2,7 мг/кг маси. ДМГ, розчинений в фізіологічному розчині — підшкірно у дозі 21 мг/кг один раз на тиждень. Тварин було поділено на 8 груп, з них 3 групи контрольні, що отримували фізіологічний розчин підшкірно та/або соняшкову олію інтрагастрально відповідно дослідним групам щурів.

Встановлено, що МІ-1 змінює активність глутатіонової антиоксидантної системи печінки щурів: знижує вміст ВГ в 2 рази та активність ГПО на 25% в обох дозах, при цьому активність ГТ майже не змінюється. За умов колоректального канцерогенезу вміст ВГ печінки зростає на 45%, активність ГПО печінки на 60%, активність ГТ печінки в 2,4 рази. МІ-1 за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу товстого кишечника наближає всі показники печінки до контрольних значень. У разі дослідження стану глутатіонової системи слизової оболонки товстого кишечника встановлено, що МІ-1 не викликає вірогідних змін глутатіон-залежних ензимів та вмісту самого глутатіону. За умов ДМГ-індукованого канцерогенезу вміст ВГ слизової оболонки товстого кишечника зростає в 2 рази, активність ГПО на 25%, активність ГТ на 60%. МІ-1 нівелює ефект ДМГ до контрольних значень всіх досліджуваних показників глутатіонової системи товстого кишечника.

Отже, за умов експериментального канцерогенезу товстого кишечника у щурів встановлено зростання активності глутатіонової системи печінки та товстого кишечника. МІ-1 викликає зниження активності глутатіонової системи печінки, хоча в слизовій оболонці товстого кишечника таких змін не встановлено. Відомо, що

печінка є основним органом для синтезу глутатіону, де він і виконує свою головну функцію детоксикації біологічно активних речовин. У зв'язку з цим печінка найбільш активно реагує на дію МІ-1, знижуючи вміст ВГ. МІ-1 за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу товстого кишечника щурів відновлює вміст ВГ та активність глутатіон-залежних ензимів у печінці та слизовій оболонці товстого кишечника. Таким чином, інгібітор протеїнкіназ МІ-1 проявляє не тільки антипроліферативну активність, а й також модулює стан глутатіонової системи, важливої при патологічних станах, зокрема онкотрансформації.

МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ПЕЧІНЦІ ТВАРИН, УРАЖЕНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ ТА ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ НА ТЛІ НИЗЬКОДОЗОВОГО РЕНТГЕНОПРОМІНЕННЯ

ФІРА Л. С., ЛИХАЦЬКИЙ П. Г.

*Тернопільський державний медичний університет, Україна;
e-mail: ludafira@mail.ru*

Токсичні ураження різними хімічними речовинами стали важливою проблемою в сучасній біології та медицині. Забруднення довкілля нітратами, нітритами, солями важких металів та хлорованими вуглеводнями, а після аварії на Чорнобильській АЕС і різними радіонуклідами, робить актуальним вивчення механізмів впливу вищевказаних факторів на організм внаслідок їх роздільної та комбінованої дії.

Метою нашої роботи було вивчення процесів метаболізму протеїнів, ліпідів та їхніх окремих класів у печінці інтактних та уражених нітритом натрію та тетрахлорметаном щурів, після опромінення їх низькими дозами радіації.

Тварини були розділені на дві групи: 1 — інтактні; 2 — одночасно уражені нітритом натрію та тетрахлорметаном на тлі низькодозового рентгенопроміння. Щурів піддавали одноразовому отруєнню нітритом натрію в дозі 70 мг/кг маси тіла, тетрахлорметан вводили внутрішньоочеревинно з розрахунку 0,3 мл 50% олійного розчину на тварину масою 150–170 г. Перед цим щурів опромінювали одноразово за допомогою апарату РУМ-17 (поглинута доза становила 1 г). Дослідження проводили на 4-у та 7-у добу після ураження.

Стан анаболічних та катаболічних процесів оцінювали за допомогою ізотопного методу з використанням радіоактивного [U^{14}] лейцину. Методом тонкошарової хроматографії розділяли окремі класи ліпідів і відмічали включення радіоактивної мітки до них.

Встановлено, що у інтактних тварин на 4-у добу дослідження на синтез протеїнів використовується 77,4% [U^{14}] лейцину, на синтез ліпідів — 14,6% і всього 8% його використовується з енергетичною метою. У разі аналізу аналогічних результатів в уражених тварин відмічається зниження швидкості синтезу протеїнів у печінці в 2,2 раза. Швидкість синтезу ліпідів за результатами включення радіоактивного лейцину знизилась у 2,3 раза, у 3 рази зменшується радіоактивність CO_2 , який виділявся до інкубації печінки уражених тварин порівняно з інтактними. Таким чином, через 4 дні після ураження тварин відмічається порушення синтезуючої функції печінки, що проявляється зниженням синтезу протеїнів та ліпідів. Через

7 днів після ураження синтетичні та енергетичні процеси в печінці проявляють тенденцію до нормалізації, хоча рівня норми ще не досягають.

У разі аналізу процесів синтезу окремих класів ліпідів у печінці уражених тварин встановлено, що через 4 доби різко знижується використання радіоактивної мітки на синтез фосфоліпідів і становить 22% порівняно з 75% у інтактних. Проте в цей період лейцин, в основному, використовується в уражених тварин на синтез холестеролу та неетерифікованих жирних кислот. Досить активно проходив в уражених тварин синтез триацилгліцеролів (зростав в 1,3 раза). Поряд з цим зростала кількість ефірів холестеролу в печінці уражених тварин, що, очевидно пов'язано з його антиоксидантними властивостями, а також присутністю в складі мембран. Через 7 діб від початку експерименту в печінці 2-ої групи тварин збільшувався відсоток використання [U^{14}] лейцину на синтез фосфоліпідів та знижувався вміст неетерифікованих жирних кислот, а також швидкість утворення ефірів холестеролу знаходилася на рівні інтактних тварин.

Нами встановлено значне пригнічення протеїнсинтезуючої функції печінки у тварин, уражених нітритом натрію та тетрахлорметаном на тлі рентгенопроміння. Відбувається порушення їхньої функціональної активності, яке проявляється порушенням синтезу окремих класів ліпідів, тобто порушенням анаболічних процесів. Це супроводжується ускладненням перебігу окислювально-променевого стресу і затримує одужання тварин.

РОЗПОДІЛ ГЛІАЛЬНОГО ФІБРИЛЯРНОГО КИСЛОГО ПРОТЕЇНУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С ТА ЛІКУВАННЯ ЦИТОФЛАВІНОМ

ФОМЕНКО О. З., УШАКОВА Г. О.

*Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: olfom@ua.fm*

Роль астроцитів у процесі виникнення печінкової енцефалопатії під час розвитку хронічного гепатиту С недостатньо вивчена. Головна мета нашої роботи була визначення рівня гліального фібрилярного кислого протеїну (ГФКП) у мозку щурів за умов розвитку хронічного гепатиту С (ХГС) та впливу цитофлавіну.

Модель експериментального ХГС створювали як описано (Ніколенко В. Ю., Ніколенко Ю. І., Ніколенко О. Ю., 2006). В експерименті використовували 18 щурів лінії Вістар. Щури отримували цитофлавін інтраперитонеально 50 мг/кг протягом 10 днів. Щури були декапітовані із застосуванням анестезії ізофураном, мозок швидко виймали та розділяли на відділи – мозочок, сенсорну частину, гіпокамп та таламус/гіпоталамус.

Розвиток ХГС призводить до значного збільшення концентрації розчинного ГФКП у всіх відділах мозку, а саме в мозочку – $10,7 \pm 0,7$ мкг/мл у порівнянні з $2,5 \pm 0,1$ мкг/мл у контрольній групі; в сенсорній частині та гіпокампі – $7,9 \pm 0,5$ та $8,1 \pm 0,5$ мкг/мл у порівнянні з $1,4 \pm 0,1$ та $2,3 \pm 0,1$ мкг/мл у контрольній групі відповідно. Імуногістохімічний аналіз показав переродження значної кількості

астроцитів у астроцити Альцгеймера II типу. Лікування цитофлавіном зменшує рівень розчинного ГФКП у мозку щурів з експериментальним ХГС (у мозочку — $2,9 \pm 0,2$ мкг/мл у порівнянні з $10,7 \pm 0,7$ мкг/мл у групі ХГС).

Рівень філаментного ГФКП за умов розвитку ХГС змінюється різнопланово у різних відділах мозку. Найбільше зростання рівня фібрилярного ГФКП відбувається у гіпокампі — $35,9 \pm 0,9$ мкг/мл у порівнянні з $19,2 \pm 3,5$ мкг/мл у контрольній групі. Лікування цитофлавіном індукує збільшене продукування цього протеїну в досліджуваних відділах.

Одержані дані дозволяють припустити, що зміни рівня ГФКП відображають комплекс цитоскелетних модифікацій в астроцитах у різних відділах мозку щурів за умов розвитку ХГС. Лікування цитофлавіном сприяє переходу розчинної форми ГФКП у фібрилярну.

БАЛАНС ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ТА ЇХНІЙ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З ФУНКЦІОНУВАННЯМ СИСТЕМИ L-Arg-NO

ХАВРОНА О. П., ФАРТУШОК Н. В., ФЕДЕВИЧ Ю. М.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна*

Прозапальні медіатори — цитокіни за умов цукрового діабету беруть участь як у формуванні запальної відповіді, так і регуляції гомеостазу глюкози. ФНП- α (фактор некрозу пухлини- α) проявляє прооксидантний ефект, сприяючи посиленню процесів ліпідної пероксидації.

Мета роботи — з'ясувати баланс прозапальних цитокінів, що супроводжують формування та перебіг у хворих цукрового діабету та їх взаємозв'язок з функціонуванням системи L-Arg-NO.

Для дослідження використовували кров 11 чоловіків, хворих на цукровий діабет I типу віком 53–63 років. Групу контролю склали 10 практично здорових чоловіків цього ж віку. Визначення NO-синтазної активності (NOS) проводили за методом Сумбаєва В. В. та Ясинської І. М. (2000). Концентрацію L-аргініну в сироватці крові визначали за методом В. А. Храмова, Л. М. Петрової, Е. Бинової (1980). Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту (NO_2^-) в сироватці крові визначали за методом Green LC, David AV (1982). Рівень прозапальних цитокінів ІЛ-1 β (інтерлейкін 1 β) та ФНП- α в сироватці крові визначали за допомогою ІФА (імуноферментного аналізу). Одержані результати статистично опрацьовані за *t*-критерієм Стюдента за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 8.0.

У сироватці крові хворих діабетом I типу виявлено значне підвищення вмісту NO в 1,8 раза ($P < 0,05$) та зниження рівня L-аргініну в 1,3 раза ($P < 0,05$). Відповідно до змін у системі L-Arg-NO зростає активність NOS в 1,2 раза ($P < 0,05$) за рахунок індукбельної форми, саме яка здатна продукувати у великих кількостях NO. Прозапальні цитокіни у хворих на цукровий діабет компенсують системну запальну відповідь з розвитком гіперактивації цитокінового каскаду та стану імуносупресії, що підтверджується вірогідним підвищенням концентрації ФНП- α в 3,4 раза та ІЛ-1 β в 3,2 раза.

Збільшення вмісту цитокінів першої лінії реагування сприяє викиданню вторинних цитокінів та активації біорегуляторних ензимних систем, у тому числі і системи L-Arg-NO.

ЗМІНИ ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НІТРИТОМ НАТРІЮ ТА ХЛОРИДОМ КАДМІЮ

ХОПТА Н. С., ЗІНКЕВИЧ М. В., ЕРСТЕНЮК Г. М.

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

Серед чинників, які впливають на стан кісткової тканини значне місце посідає забруднення довкілля. Як відомо, сполуки кадмію, нітрати і нітрити відносяться до поширених екотоксикантів. З року в рік зростає їх вміст в екосистемах, а отже і надходження в організм людини і тварин. Зважаючи на високу біологічну активність нітратів і нітритів та значну токсичність і здатність до кумуляції в організмі розчинних сполук кадмію, був проведений експеримент з метою оцінки їхнього поєднаного впливу на стан мінерального матриксу стегнових кісток та щелеп тварин.

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 180–220 г, яких було поділено на групи: 1 – інтактні тварини; 2 – інтоксиковані нітритом натрію та хлоридом кадмію ($\text{NaNO}_2 + \text{CdCl}_2$) (тварини отримували з питною водою NaNO_2 (1/10LD₅₀), а CdCl_2 – внутрішньом'язово (1/10LD₅₀). Введення ксенобіотиків проводили впродовж 10 днів, а забір матеріалу (стегнові кістки, щелепи) здійснювали на 1-, 14- та 28-у добу після завершення введення токсикантів. Вміст у кістках біоелементів (Ca, Mg, Zn, Cu) та токсичного Cd визначали атомно-абсорбційним методом. Результати дослідження статистично обробляли з використанням коефіцієнта Стюдента.

Встановлено суттєві зміни в розподілі елементів внаслідок поєднаної дії NaNO_2 і CdCl_2 . Вміст Ca знижується найбільшою мірою на 28-у добу: у стегнових кістках на 15%, у кістках щелеп у 2 рази. Рівень Mg у стегнових кістках зазнає різноспрямованих змін: на 1-у – та 28-у добу зростає відповідно на 36 та 20%, на 14-у добу знижується на 14% порівняно з показниками інтактних тварин. У кістках щелеп рівень Mg удвічі вищий на 28-у добу. Вміст цинку в стегнових кістках знижується на 20–45% відносно значень контролю, тоді як у кістках щелеп поступово зростає і в пізньому періоді – в 3 рази вищий. Рівень Cu у щелепах майже не змінюється протягом всього періоду спостережень, тоді як у стегнових кістках підвищується на 25–27%. Рівень токсичного елементу Cd підвищується найбільшою мірою у віддаленому періоді експерименту: у стегновій кістці зростав у 17 разів порівняно з інтактними, а в кістках щелеп у 6 разів.

Отже, надходження в організм нітритів та сполук кадмію сприяє розвитку дисмікроелементозу, який супроводжується змінами вмісту есенціальних елементів на фоні накопичення важкого металу кадмію, що може бути причиною порушень метаболічних процесів в організмі.

ВПЛИВ ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ НА ЗМІНИ СКЛАДУ РОТОВОЇ РІДИНИ У МОЛОДИХ ЛЮДЕЙ

ЦУБЕР В. Ю.

Українська медична стоматологічна академія, Полтава;
e-mail: victoriya.tsuber@gmail.com

Вплив стресорних факторів на організм обумовлює розвиток ряду психосоматичних захворювань, але механізми, що відповідають за реалізацію ушкоджуючого впливу стресу в залежності від типу реагування організму, ще недостатньо висвітлені.

Метою дослідження було визначення впливу психоемоційного стресу (екзамен) на розвиток патологічних змін у ротовій рідині молодих людей та залежності цих змін від типу реагування особистості.

Спостереження проводили на 36 молодих людях (студенти ВНЗ) обох статей. Нестимульовану ротову рідину у стані психоемоційного напруження збирали безпосередньо перед початком екзамену (дослідна група). Ці ж студенти склали контрольну групу: збір нестимульованої ротової рідини здійснювали в стані відносного спокою за два тижні до проведення екзамену. В ротовій рідині визначали активність альфа-амілази за методом Караєва, вміст загального протеїну — методом Бенедикта, концентрацію малонового діальдегіду за методом І. Д. Стальної та Т. Г. Гарішвілі (1977), вміст окислювально модифікованих протеїнів за методикою О. Ю. Дубініної та Г. Є. Поротова (1995). Для оцінки ситуативної та особистісної тривожності використовували опитувальник Спілбергера-Ханіна, для визначення типу реагування особистості — 16-факторний особистісний опитувальник Кеттелла. Статистичний аналіз проводили з використанням критерію *t*-Стюдента та коефіцієнта кореляції Пірсона.

Нами виявлено, що за умов психоемоційного стресу активність альфа-амілази ротової рідини достовірно збільшується на 7,7% порівняно з контролем ($P < 0,05$). За цих умов інтенсивність окислювальної модифікації протеїнів достовірно зменшується в 1,6 раза порівняно з контролем ($P < 0,05$). Вміст малонового діальдегіду в ротовій рідині досліджуваних груп суттєво не відрізняється ($P > 0,05$). Про стресогенний вплив емоційного напруження перед складанням екзамену свідчать дані опитувальника Спілбергера-Ханіна: ситуативна тривожність достовірно збільшується в 1,3 раза ($P < 0,01$), тоді як особистісна тривожність суттєво не відрізняється ($P > 0,05$).

Таким чином, психоемоційне напруження у молодих людей сприяє змінам складу ротової рідини, які характеризують активацію адаптивних механізмів організму.

**ВМІСТ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ 1 β ТА 6 У СИРОВАТЦІ КРОВІ
ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ
ІНТОКСИКАЦІЇ ТА У РАЗІ ЗАСТОСУВАННЯ
ОЦТОВОКИСЛОГО ЦИНКУ**

*ЧАЙКА В. О., ХАРЧЕНКО О. І., ГАДІЛІЯ О. П.,
ОСТАПЧЕНКО Л. І.*

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: rigik1979@gmail.com*

Сьогодні процесам запалення надається все більш важлива роль у патогенезі численних патологій, викликаних алкоголем. Тому метою нашого дослідження було визначити вміст прозапальних інтерлейкінів 1 β та 6 за умов хронічної алкогольної інтоксикації (ХАІ) та внаслідок введення оцтовокислого цинку – сполуки, що може компенсувати дефіцит цинку, який супроводжує розвиток алкоголізації.

Дослідження проводили на самцях білих лабораторних нелінійних щурів з початковою масою 160 г. ХАІ викликали за стандартною методикою М. Х. Халілова і Ш. А. Закирходжаєва; 1-ша група – контрольні тварини; 2-га група – щури з хронічною алкогольною інтоксикацією, що викликалась за стандартною методикою; 3-тя група – щури з ХАІ, яким додатково вводили цинк в дозі 0,2 г на 100 г маси тварини. Вміст досліджуваних цитокінів визначали на 4-у, 7-у, 11-у, 16-у і 21-у добу після початку експерименту методом імуноферментного аналізу з використанням наборів реактивів (Sigma, США).

Встановлено поступове зростання вмісту інтерлейкінів 1 β та 6 сироватки крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації, що досягало найвищих значень на пізніх етапах дослідження. Введення оцтовокислого цинку приводило до зниження досліджуваних параметрів до контрольних величин.

Таким чином, при тривалій дії етанолу відбувається безперервна активація імунної системи, що призводить до розвитку хронічного запалення і руйнування гепатоцитів. Введення оцтовокислого цинку призводить до поступової нормалізації вмісту цитокінів, що може слугувати доказом можливої протизапальної дії досліджуваної сполуки за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

ВЛИЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНО АДРЕСОВАННОГО АНТИОКСИДАНТА SKQ₁ НА СОСТОЯНИЕ ИЗОЛИРОВАННОЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИЧЕСКОМ ХРАНЕНИИ

¹ЧЕРКАШИНА Д. В., ¹СОСИМЧИК И. А., ¹СЕМЕНЧЕНКО О. А.,
²СКУЛАЧЕВ В. П., ¹ПЕТРЕНКО А. Ю.

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;

²НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского

МГУ им. М. В. Ломоносова, Россия;

e-mail: danyusha@ukr.net

Усиление продукции активных форм кислорода митохондриями и процессов пероксидного окисления вследствие гипотермического хранения (ГХ), а также последующей нормотермической реперфузии (НР) печени играет важную роль в развитии ишемически-реперфузионных повреждений. Целью работы было исследование эффективности митохондриально адресованного антиоксиданта SkQ₁, разработанного группой В. П. Скулачёва и показавшего свою эффективность в ряде экспериментов *in vitro* и *in vivo*, на модели ГХ и последующей НР изолированной печени.

SkQ₁ был предоставлен «Центром Митоинженерии МГУ». Печень крыс хранили в течение 24 ч при 4 °С в сахарозо-солевом растворе, разработанном в ИПКиК НАН Украины, в отсутствие (контроль) или в присутствии 1 мкМ SkQ₁ (опыт). Для оценки состояния органа исследовали его прооксидантно-антиоксидантный баланс и уровень АТР. В ходе НР в перфузате определяли активность АЛТ, АСТ и ЛДГ. Функцию печени оценивали по скорости потока желчи в процессе реперфузии.

Показано, что ГХ и последующая НР приводят к значительным нарушениям прооксидантно-антиоксидантного баланса в печени, которые сопровождаются снижением содержания АТР и скорости потока желчи. Присутствие в среде хранения 1 мкМ SkQ₁ позволяет достоверно снизить скорость накопления ТБК-активных продуктов, не влияя на активность антиоксидантных ферментов в печени и скорость элиминации маркерных ферментов в перфузат в ходе НР. Уровень GSH после ГХ в растворе с SkQ₁ достоверно выше контроля, однако, реперфузия нивелирует этот эффект. Присутствие SkQ₁ позволяет повысить уровень АТР как после ГХ, так и после НР и положительно влиять на функциональное состояние печени, что проявляется в увеличении скорости потока желчи практически до уровня, свойственного свежеизолированному органу.

Таким образом, представляется перспективным использование митохондриально адресованного антиоксиданта SkQ₁ в качестве компонента раствора хранения изолированной печени, однако, эта проблема требует более детальных исследований.

ВИЗНАЧЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНО НЕАКТИВНИХ ФОРМ ПРОТРОМБІНУ У РАЗІ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ

^{1,2}ЧЕРНИШЕНКО В. О., ^{1,2}КОРОЛЬОВА Д. С., ³ГРИЩЕНКО В. А.,
³ЛИТВИНЕНКО О. М., ¹ПЛАТОНОВА Т. М.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Київський національний університет
імені Тараса Шевченка, Україна;

³Національний університет біоресурсів і природокористування
України, Київ;
e-mail: bio.cherv@gmail.com

Декарбоксільовані форми протромбіну, які накопичуються внаслідок захворювань печінки, фізіологічно неактивні і нездатні активуватися до тромбіну (ФНФП). Для визначення ФНФП нами було запропоновано два тести: екамуліновий час (ЕЧ) та протромбіновий час (ПЧ). Екамулін — активатор протромбіну з отрути *Echis multisquamatis*, що здатен активувати як протромбін, так і ФНФП, тому показник ЕЧ демонструє загальний вміст протромбіну в плазмі крові. Тромбопластин, що використовується у тесті ПЧ, активує лише карбоксільований протромбін, а отже результати ПЧ дають змогу оцінити лише вміст функціонально активного протромбіну. Для оцінки результатів тестів використовували міжнародне нормалізоване відношення для протромбінового тесту — ПВ, а для екамулінового — ЕВ. Отже, екамуліново-протромбінове відношення ЕВ/ПВ дає змогу оцінити вміст ФНФП. Метою даної роботи була апробація запропонованого підходу для визначення ФНФП у випадку медикаментозного гепатиту у щурів.

Досліджено стан системи зсідання крові трьох груп щурів з медикаментозним гепатитом: контрольну групу (без лікування) і дві дослідні групи, яким проводилось лікування біологічно активною добавкою БАД FLP-MD та комерційним препаратом «Есенціале-форте». Показано, що у обох дослідних групах вміст карбоксільованого протромбіну, виявлений у тесті ПЧ, та сумарний рівень протромбіну, визначений за тестом ЕЧ, знаходяться у межах норми: $ЕВ = ПВ = 1,0 \pm 0,04$. Отже, функціональний стан печінки у цих групах після лікування відновлено і пов'язані з ним розлади системи гемостазу усунуті.

Однак, у контрольній групі $ЕВ = 0,8$, $ПВ = 0,4$, що свідчить про те, що медикаментозний гепатит викликав глибокі порушення анаболізму в печінці. Як наслідок, синтез протромбіну знизився на 20% (за результатом ЕВ), а 50% синтезованого протромбіну були функціонально неактивні (ЕВ/ПВ).

Таким чином, визначення екамуліново-протромбінового відношення у разі медикаментозного гепатиту у щурів дало змогу оцінити вміст ФНФП у дослідних тварин та діагностувати як захворювання печінки, так і супутні розлади системи гемостазу.

ВПЛИВ ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ «СИЛІКС» НА АКТИВАЦІЮ СИСТЕМИ ЗСІДАННЯ КРОВІ

¹ЧЕРНИШЕНКО Т. М., ²ГАЛАГАН Н. П., ¹ГОРНИЦЬКА О. В.,
¹ГРИЩУК В. І., ¹ПЛАТОНОВА Т. М.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України, Київ;

e-mail: platonovtn@gmail.com

Дослідження останніх років показали, що якісно новим і перспективним засобом припинення кровотеч (в тому числі й таких, які не вдається зупинити класичними методами) є використання сорбентів на основі високодисперсного кремнезему. Конструктивним вирішенням цієї проблеми може бути застосування препарату «Силікс», розробленого на основі аморфного ультрадисперсного кремнезему та впровадженого в медичну практику Інститутом хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України.

Нами проведено дослідження впливу сорбенту на окремі ланки системи гемостазу. Використовували скринінгові тести для визначення вмісту/активності основних компонентів коагуляційного гемостазу за присутності «Силіксу» — протромбіновий час, тромбіновий час, активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ). Досліджували вплив сорбенту на процес активації окремих факторів системи зсідання крові та на агрегаційну здатність тромбоцитів.

Показано, що «Силікс» скорочує час зсідання плазми крові у тестах протромбіновий час та АЧТЧ на $25 \pm 2\%$. За рахунок розділення етапів каскаду ферментативних реакцій системи зсідання крові у модельних системах *in vitro* встановлено вибірккову дію сорбенту на фактори системи зсідання крові, зокрема, на фактор X та протромбін. Виявлено, що «Силікс» значно прискорює активацію фактора X плазми крові за рахунок залучення активованих на його поверхні факторів внутрішнього шляху зсідання крові.

Показано, що сорбент сприяє активації тромбоцитів за рахунок активації факторів системи зсідання крові. Тобто вплив сорбенту на агрегаційну здатність тромбоцитів є опосередкованим.

Аналіз отриманих даних показав, що «Силікс» підвищує гемостатичний потенціал системи зсідання крові. Це створює перспективи подальшого дослідження сорбенту для використання його в клінічній практиці у разі хірургічних втручань та внаслідок порушень системи гемостазу, які пов'язані з кровотечами.

ВЛИЯНИЕ ФЕРРОМАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

ЧЕХУН В. Ф., ТОДОР И. Н., ЛУКЬЯНОВА Н. Ю.,
ДОЛИНСКИЙ Г. А., ДЕМАШ Д. В.

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и
радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины, Киев;
e-mail: oncom@onconet.kiev.ua*

Использование нанотехнологий и наноструктур в области медицины создает новые перспективные возможности для улучшения диагностики и лечения различных заболеваний, в первую очередь, онкологических. В предыдущих наших исследованиях было показано, что ферромагнитные наночастицы обладают цитотоксическим действием по отношению к клеткам асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ). Поскольку известно, что большинство комплексов, входящих в состав дыхательной цепи митохондрий, содержат железо, целью работы было исследовать влияние ферромагнитных наночастиц на поглощение кислорода и свободнорадикальные процессы в опухолевых клетках.

В работе использовали методы экспериментальной онкологии, атомно-абсорбционной спектроскопии, лазерно-корреляционной спектрометрии, полярографии, хемилюминесцентного анализа. В исследованиях использовали 50 мышей-гибридов (C57Bl/6xDBA/2), которым внутрибрюшинно перевивали асцитную карциному Эрлиха. Извлеченные из брюшной полости клетки АКЭ инкубировали на протяжении 1 ч (среда RPMI, 37 °C) в присутствии стабилизированных ферромагнитных наночастиц Fe_3O_4 размером 20–40 нм (ФМ) в концентрации 100 мкг Fe в 1 мл.

Установлено, что культивирование с ФМ приводит к повышению скорости потребления кислорода клетками АКЭ в 2,4 раза ($P < 0,01$). Очевидно, это является следствием разобщения окислительного фосфорилирования, поскольку количество мертвых клеток достигало 30%. Наряду с этим, в клетках АКЭ наблюдались изменения свободнорадикального метаболизма, о чем свидетельствуют результаты анализа люминол-зависимой хемилюминесценции. Так, при инкубации клеток АКЭ с наночастицами Fe_3O_4 наблюдалось резкое снижение амплитуды пика кривой хемилюминесценции по сравнению с контролем, а также итоговое затухание свечения люминола до уровня ниже фонового.

Таким образом, инкубация клеток АКЭ с ФМ в концентрации 100 мкг Fe в 1 мл в течение 1 ч приводит к повышению скорости поглощения кислорода клетками и соответствующему изменению свободнорадикального метаболизма.

Робота виконана за підтримки Міністерства освіти і науки України, грант № ДЗ/469-2009 від 17.07.2009 р.

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ЛІЗИЛОКСИДАЗИ ТА ВМІСТУ ФОРМАЛЬДЕГІДУ У РАЗІ СЕМІКАРБАЗИД- ІНДУКОВАНОГО ЛАТИРИЗМУ

*ШАНДРЕНКО С. Г., ВОЛОДИНА Т. Т., ДЗВОНКЕВИЧ Н. Д.,
ПЕТРУНЬ Л. М., КРИСЮК І. П., ПОПОВА Н. М.,
ДМИТРЕНКО М. П.*

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

Як відомо, лізилоксидаза — ензим, що формує структуру позаклітинного матриксу, бере участь у модулюванні клітинної міграції та адгезії, відіграє важливу роль в механізмах метастазування пухлин. Інгібітори лізилоксидази, до яких відноситься і семікарбазид, здатні зменшувати метастатичний потенціал канцерогенних клітин. Також відомо, що формальдегід бере участь у неензиматичному утворенні внутрішньо- та міжпротеїнових зшивок, тому також здатен впливати на стан позаклітинного матриксу.

На щурах відтворена модель семікарбазидіндукованого латиризму шляхом додавання семікарбазиду до питної води (0,075%) протягом 45-ти діб. Показано, що у дослідних тварин, порівняно з контролем, відбувається зменшення маси тіла на 30% та збільшення масових коефіцієнтів органів. На тлі паралічу тазових кінцівок та розвитку сколіозу має місце часткове руйнування кісткової тканини з розростанням хрящової, концентрація кальцію гомілкової кістки за даних умов зменшується на 46%. Внаслідок розвитку латиризму також відбуваються суттєві структурні зміни в позаклітинному матриксі, що пов'язані зі зменшенням кількості міжмолекулярних зшивок в ньому. Активність лізилоксидази в тканині серцевої аорти зменшується в 5 разів. Концентрація формальдегіду визначалася в тканинах печінки *in vivo* шляхом введення в організм акцептору альдегідів — 5,5-диметилциклогексан-1,3-діону з наступним флуоресцентним визначенням формалдимедону. Показано, що в умовах латиризму концентрація формальдегіду зменшується на 47% та становить 80 мкМ. Таким чином, семікарбазид впливає не тільки на активність ензиматичних процесів утворення альдегідних груп на протеїнзв'язаному лізині, але і на рівень альдегідів іншої природи, відповідних за утворення міжмолекулярних зшивок. Представлена експериментальна модель є інформативною в дослідженнях впливу інгібіторів лізилоксидази на стан позаклітинного матриксу.

EXPRESSION PATTERNS OF HUMAN β -DEFENSIN-2 AND MUCIN-1 IN HUMAN LUNG TUMORS

¹SHESTAKOVA T., ¹MEZHUEV O., ¹EFANOVA O., ¹ZHURAVEL E.,
²BOLGOVA L., ²ZAITSSEV S., ¹SOLDATKINA M., ¹POGREBNOY P.

¹Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

²National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine;

e-mail: pogrebnoy@onconet.kiev.ua

The human mucin1 (MUC1) is a high-molecular-weight polymorphic transmembrane glycoprotein expressed with apical polarization on epithelial cells of lung and other organs. In lung cancer, Muc1 expression is often up-regulated. Defensins – small cationic antimicrobial peptides – are recognized presently as an important component of innate immunity. Defensin expression is implicated in antibacterial protection of respiratory tract while their malfunction plays a role in different respiratory pathologies including cystic fibrosis, asthma, pneumonia. Data on expression of defensins in lung cancer cells are scarce. The present research was aimed at the study of the expression patterns of human β -defensin-2 (hBD-2) and MUC1, two innate immunity molecules expressed in lung cells.

In the study, the samples of human lung tumors (squamous cell carcinoma (SCC), $n = 11$; adenocarcinoma (AC), $n = 21$) paired with conditionally normal tissue samples were studied. For detection of hBD-2 and MUC1 mRNA expression in tissue samples, semiquantitative RT-PCR analysis was performed with the use of specific primers. Expression of PCNA was analyzed with the use of immunohistochemical analysis on tumor tissue slides.

The results of our study have shown that the patterns of hBD-2 and MUC1 expression didn't correlate with the stage of the disease, tumor grade and differentiation, but seems to be tightly related to histological type of lung cancer. In particular, events of hBD-2 mRNA overexpression in lung tumor specimens compared to normal lung tissue samples have been registered in 19 of 35 cases of lung cancer; meanwhile, 8 of 11 studied SCC cases (75%) are characterized by hBD-2 up-regulation, 7 of each simultaneously overexpress MUC1 mRNA. 2 SCC cases in which hBD-2 down-regulation has been detected, are both of bronchial localization (in other cases the tumors had lobular localization). So, as it has been revealed, hBD-2 mRNA overexpression is characteristic of lung squamous cell carcinoma cells. However, in studied cases of human lung adenocarcinoma ($n = 21$) the expression patterns of MUC1 and hBD-2 mRNAs seem not be related so tightly to each other, and their up-regulation in AC cases is a more rare event than in the case of SCC. MUC1 mRNA was overexpressed in 9 from 21 AC cases, hBD-2 mRNA – also in 43% of AC cases, but simultaneous overexpression of these molecules was detected only in 3 episodes. Interestingly, in lung adenocarcinoma hBD-2 down-regulation is a frequent event and has been registered in 8 cases of 21, 2 of each are determined as bronchoalveolar cancer. In 9 AC cases, MUC1 mRNA was also down regulated in tumor tissue samples compared to nontransformed lung tissue. It should be noted that in none SCC case of lobular localization, hBD-2 or MUC1 mRNAs down-regulation has been detected. An analysis of lung cancer cell proliferation by the level of PCNA expression has shown that in nearly 60% lung tumor samples a tendency is observed for association between cell proliferation rate and the ratio between MUC1/hBD-2 expression values.

Our data have shown that the patterns of hBD-2 and MUC1 mRNAs expression depend on histological type of lung tumors: while their up-regulation is characteristic of squamous cell carcinoma cells, their down-regulation is a more frequent event in lung adenocarcinoma cells. Physiologic role of hBD-2 and MUC1 expression in human lung tumor cells remains to be estimated.

ІНДУКЦІЯ РЕТИНОЇДАМИ *CYP* АКТИВНОСТІ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА

ШМАРАКОВ І. О., МАРЧЕНКО М. М.

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

Ретиноїди (вітамін А та його природні і синтетичні аналоги) є необхідними для нормального росту і диференціації клітин та виявляють протипухлинну активність. Водночас на сьогоднішній день все частіше знаходить своє експериментальне підтвердження контрверсійність впливу ретиноїдів на проліферацію пухлинних клітин. Життєздатність злоякісно трансформованих клітин, для яких характерна висока метаболічна активність та утворення значної кількості токсичних продуктів метаболізму, їхня агресивність та резистентність пухлини в цілому значною мірою забезпечується високим рівнем активності компонентів клітинної системи детоксикації, провідним елементом якої є мітосомна монооксигеназна система цитохромів *P-450 (CYP)*. Ретиноїди здатні прямо індукувати експресію визначених ізоформ *CYP* через активацію промотора, який містить RARE (retinoic acid responsive element) у комплексі з рецепторами ретиноевої кислоти (RAR, RXR) та рецепторами проліфераторів пероксисом (PPAR).

Мета роботи — проаналізувати взаємозв'язок процесів росту злоякісного новоутворення на моделі карциноми Герена та забезпеченості організму вітаміном А, як природного есенціального модулятора проліферативних та ростових процесів на молекулярному рівні.

Відновлення вітамінних А ресурсів авітамінозного організму із карциномою Герена дозозалежно ($r = 0,83$) модулює темпи росту пухлини, що позитивно корелює з п-гідроксилазною ($r = 0,81$) та меншою мірою з N-деметилазною ($r = 0,43$) активністю цитохрому *P-450*. Завдяки цьому підвищенню кількості вітаміну А (у формі ретинолацетату) в експериментальній дієті на кожні 100 МО відбувається приріст пухлинної маси на 1 см³. З метою прямої специфічної доставки потенційного індуктора та нівелювання впливу іншої активності ретиноїдів (в тому числі і антиоксидантної) транс-ретиноеву кислоту (10 мкг/кг) вводили у векторній ліпосомній формі. Це викликає зростання розмірів пухлини та індукцію *CYP* активності, подібну до показників в авітамінозних тварин, які отримували супрафізіологічні дози ретинолацетату, підтверджуючи індукційний механізм активації системи цитохрому *P-450* карциноми Герена, що забезпечує їхній інтенсифікований пухлинний ріст.

УТВОРЕННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В МОЗКУ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ

ШТАТЬКО О. І., ЗАІЧКО Н. В., ЧЕРВЯК М. М.

*Вінницький національний медичний університет
ім. М. І. Пирогова, Україна;
e-mail: igorgera@vsmu.vinnica.ua*

Порушення обміну сірковмісних амінокислот в останні роки викликають великий інтерес у зв'язку із встановленням їхньої причетності до розвитку та прогресування числених патологічних станів, у тому числі судинних захворювань, інсультів та захворювань нервової системи. Як відомо, в процесі метаболізму сірковмісних амінокислот утворюються числені регуляторні молекули. Прикладом такої речовини є гідроген сульфід — вазоактивний метаболіт цистеїну та гомоцистеїну. В той же час аспекти обміну сірковмісних амінокислот у мозку, особливо ті, що пов'язані з утворенням гідроген сульфіду, мало відомі. Можливо, що нейротоксична дія надлишку гомоцистеїну реалізується також через порушення продукції гідроген сульфіду. Тому метою роботи було дослідження активності ензимів обміну сірковмісних амінокислот, які каталізують реакції синтезу гідроген сульфіду, в мозку інтактних щурів та виявлення можливих порушень під час тривалої гіпергомоцистеїнемії.

Досліди проведено на 30 білих щурах-самцях з масою тіла 200–250 г. Модель гіпергомоцистеїнемії створювали шляхом введення тіолактону гомоцистеїну (100 мг/кг маси тіла, інтрагастрально) протягом 28 діб. У гомогенатах мозку визначали активність ензимів, які забезпечують утворення гідроген сульфіду з цистеїну та гомоцистеїну, а саме — цистатіонін-β-синтази, цистатіонін-γ-ліази та цистеїнамінотрансферази.

Встановлено, що в мозку продукція гідроген сульфіду найактивніше відбувається в реакції конденсації гомоцистеїну з цистеїном за участю цистатіонін-β-синтази. Менший вклад в цей процес вносять реакції десульфурування та трансамінування цистеїну за участю цистатіонін-γ-ліази та цистеїнамінотрансферази. Так, активність цистатіонін-β-синтази в мозку інтактних тварин становить $0,45 \pm 0,027$ нмоль/хв на 1 мг протеїну, а цистатіонін-γ-ліази і цистеїнамінотрансферази — $0,35 \pm 0,025$ та $0,037 \pm 0,004$ нмоль/хв на 1 мг протеїну відповідно. Тривале введення тіолактону гомоцистеїну істотно зменшує здатність тканин мозку до продукції гідроген сульфіду. Про це доказово свідчить зниження активності цистатіонін-β-синтази (на 18,0%) та цистатіонін-γ-ліази (на 20,0%) у тварин з гіпергомоцистеїнемією. За цих умов активність цистеїнамінотрансферази в мозку практично не змінюється. Ймовірно, що зниження продукції гідроген сульфіду в мозку є одним із патернів формування уражень судин та неврологічних розладів, асоційованих з порушеннями обміну сірковмісних амінокислот.

СПІВВІДНОШЕННЯ МЕДІАТОРНИХ АМІНОКИСЛОТ У МОЗКУ ЩУРІВ З РІЗНОЮ АУДІОГЕННОЮ ЗБУДЛИВІСТЮ

ЯКИМЕНКО Т. І., ГЛАДКА Н. І., ПРИХОДЧЕНКО В. О.

*Харківська державна зооветеринарна академія МАП України;
e-mail: gladkaya_75@mail.ru*

Однією з актуальних проблем сучасної медицини, біохімії та нейрофізіології є проблема формування судомних пароксизмальних станів. Їхній розвиток пов'язаний з переходом нормально функціонуючих нейронів до стану крайніх форм активності і залежить як від процесу передачі збудження, так і участі в ньому медіаторних амінокислот.

Вплив нейромедіаторних амінокислот на збудливість нейронів залежить не тільки від їхнього кількісного вмісту в різних структурах головного мозку, а й від певного співвідношення між окремими амінокислотами. Враховуючи це, метою даної роботи було вивчення балансу між збуджуючими (глутаміновою та аспарагіновою кислотами) та гальмівними (гліцином і таурином) амінокислотами. У разі проведення статистичної обробки ми враховували спряженість дії певних збуджуючих та гальмівних амінокислот. Так відомо, що гальмівний гліцин діє спряжено зі збуджуючим глутаматом, а таурин — з аспартатом. Тому нам було цікаво вивчити співвідношення загальної кількості збуджуючих і гальмівних амінокислот («коефіцієнту збудження») у відповідних структурах головного мозку щурів з різним рівнем аудіогенної збудливості.

Експеримент проводили на самцях щурів лінії Вістар масою 180-220 г, які після реакції на аудіогенний подразник були розділені на 3 групи: низькозбудливих (група «Н»), середньозбудливих (група «С») та високозбудливих (група «В»). Через 2 тижні після тестування тварин декапітували і в холодних умовах виділили 12 структур, які могли б приймати участь в формуванні осередку судомної активності, згідно з топографічним атласом головного мозку щурів. Рівень вмісту медіаторних амінокислот визначали методом рідинної хроматографії на автоматичному аналізаторі амінокислот.

Одержані дані свідчать про те, що у низькозбудливих тварин найбільш високі значення «коефіцієнту збудження» виявлено у вентральному гіпокампі (+3,49), дорзальному гіпокампі (+2,58), лімбічній корі (+2,69) та чорній субстанції (+2,48).

У групі середньозбудливих тварин високі значення даного коефіцієнту виявлені у вентральному гіпокампі (+4,16), латеральному гіпоталамусі (+4,11) та дорзальному гіпокампі (+3,26).

У високозбудливих тварин високі значення цього коефіцієнту виявлені у лімбічній корі (+3,14), мигдалевидному комплексі (+2,73) і чорній субстанції (+2,86).

Виходячи з того, що аспарагінова і глутамінова кислоти підвищують збудливість структур мозку, знижують їхній поріг судомної готовності, підсилюють судомну активність, а гліцин і таурин гальмують ці процеси, стабілізуючи збудливість головного мозку, високі значення «коефіцієнту збудливості» в структурах, які приймають участь у формуванні осередку патологічного збудження у щурів групи «В», можуть виконувати роль одного з нейрохімічних корелятивів підвищеної збудливості.

Відмінності у рівнях вмісту медіаторних амінокислот у відділах головного мозку тварин з різним рівнем збудливості свідчить про можливо новий якісний стан, який характеризує мозок з високим ступенем аудіогенної збудливості. Можливо, цей стан пов'язаний з формуванням якісно нової системи нейрохімічного забезпечення нервових процесів.

ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ МУКОПОЛИСАХАРИДОВ ДЛЯ ПАТОГЕНЕЗА И ДИАГНОСТИКИ НЕФРОЛИТИАЗА

¹ЯКОВЕНКО М. Г., ²РОССИХИН В. В., ¹ЯКОВЕНКО Н. В.

¹Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;

²Харьковская медицинская академия последипломного
образования, Украина;
e-mail: m.yakovenko@list.ru

В настоящее время известно, что накопление при уролитиазе мукополисахаридов в зоне почечного сосочка приводит к нарушению фильтрации и реабсорбции протеинов, солей, полиэлектrolитов и способствует камнеобразованию.

Изучены протеиновые и углеводные компоненты кислых мукополисахаридов в плазме крови, ткани почки и в моче у 180 больных с первичным и рецидивным нефролитиазом. Исследовали почечный сосочек, корковое и мозговое вещество почки, полученное путем биопсии или при нефрэктомии. Все больные были разделены на 2 группы: 1-я — больные со спорадическим камнеобразованием (90), 2-я — больные с рецидивным камнеобразованием (90). Определение кислых мукополисахаридов — гиалуроновой кислоты (ГК) и хондроитин-сульфатов (ХСТ) сыворотки крови осуществляли спекрофотометрически. При исследовании мукополисахаридов крови у больных 1 группы нефролитиазом установлено незначительное увеличение содержания ГК и ХСТ. У больных 2-й группы содержание их значительно выше, чем в контроле, а также выше, чем у больных 1-й группы. В тоже время количество ХСТ увеличено по сравнению с контролем в 10 раз. У больных 2-й группы эти показатели соответственно на 2,1 и 3,7 ед. выше, чем в контроле, и значительно превышают показатели 1-й группы. Следовательно, у больных нефролитиазом имеются нарушения обмена мукополисахаридов, сопровождающиеся увеличением их количества, как в сыворотке крови, так и в моче. При этом существует прямая зависимость между изменением их содержания в крови и моче, и длительностью заболевания.

Спектрограммы коркового вещества почки идентичны спектрограммам крови. На спектрограммах мозгового вещества почки у отдельных больных выявлено расщепление полос поглощения, что аналогично найденным у этих же больных изменениям в моче. При изучении спектрограмм сосочка установлено полное их совпадение со спектрограммами мочи. Нарушение структуры мукополисахаридов в области сосочка, приводило к расщеплению мукополисахаридов и нарушению функции фильтра, что создавало условия для проникновения в мочу протеинов, солей, полиэлектrolитов и расщепленных фракций мукополисахаридов, которые

являются первичными центрами камнеобразования. Применение инфракрасной спектроскопии кислых мукополисахаридов может быть использовано для диагностики нефролитиаза и его рецидивов.

ЗМІНИ РІВНЯ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ IL-1 β , IL-6 У РАЗІ СИНДРОМУ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ У ХВОРИХ З ГОСТРОЮ КИШКОВОЮ НЕПРОХІДНІСТЮ

ЯСТРЕМСЬКА О. О., ПОРОХНАВЕЦЬ Л. Є.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: oksana_yastremska@ukr.net*

Актуальною в невідкладній абдомінальній хірургії є проблема лікування хворих з гострою кишковою непрохідністю (ГКН), бо у 90% випадків післяопераційна летальність пов'язана з виникненням синдрому ендогенної інтоксикації (ЕІ). Прогноз перебігу хвороби, вибір лікування неможливий без об'єктивної оцінки ступеня ЕІ.

Метою наших досліджень було вивчення зміни рівня прозапальних цитокінів у разі синдрому ЕІ у хворих з ГКН різного генезу.

Нами обстежено 19 хворих з ГКН пухлинного генезу і 22 хворих з ГКН, непов'язаною з розвитком пухлини. Вік хворих — 15–89 років. Клініко-лабораторне обстеження проводили до операції та на 3-ю добу після оперативного втручання. Рівень інтерлейкінів IL-1 β і IL-6 у сироватці крові вивчали за допомогою методу імуноферментного аналізу (реактиви фірми Cytimmunt, США) на апараті Stat-Fax-303.

Під час госпіталізації у всіх хворих з ГКН спостерігали виражену гіперцитокінемію, зокрема, різко підвищений вміст інтерлейкінів IL-1 β — $969,5 \pm 6,9$ пг/мл (контроль — 0–50 пг/мл) та IL-6 — $499,4 \pm 82,6$ пг/мл (контроль — 0–5 пг/мл). ГКН пухлинного генезу після проведеного оперативного втручання характеризувалася значним підвищенням у сироватці крові IL-6 ($P < 0,05$). У хворих з ГКН іншого генезу рівень IL-6, навпаки, знижувався ($P < 0,05$). У хворих з тонкокишковою непрохідністю у сироватці крові виявлявся більш високий рівень IL-1 β ($1517,3 \pm 249,6$ пг/мл), ніж у хворих з товстокишковою непрохідністю ($412,1 \pm 64,2$ пг/мл). Виявлено, що перебіг хвороби у хворих з тонкокишковою непрохідністю важчий і клінічно маніфестується швидшим розвитком синдрому ЕІ.

Таким чином, важливе значення у розвитку критичного стану внаслідок ГКН має рівень прозапальних інтерлейкінів та системна запальна реакція (чим вищий їхній рівень, тим важчий перебіг і несприятливий прогноз хвороби). Покращення результатів лікування хворих з ГКН забезпечить можливість пошуку і впровадження в клінічну практику блокаторів продукції IL-1 β та IL-6.

IV. БІОТЕХНОЛОГІЯ. БІОБЕЗПЕКА. БІОЗАХИСТ

ДОПОВІДІ

ОДЕРЖАННЯ ВОДНЮ В МІКРОБНОМУ ПАЛИВНОМУ ЕЛЕМЕНТІ

ГОЛУБ Н. Б., АНДРУХОВЕЦЬ В. М., САМАРУХА І. А.,
ЩУРСЬКА К. О.

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут»;
e-mail: toshulya@ukr.net

Існуючі на сьогодні проблеми утилізації відходів різноманітного походження та зменшення кількості викопних палив надали поштовх для пошуку нових технологій конверсії відходів та одержання палива або електричної енергії за використання відновлювальних сировинних джерел. Екологічно чистим носієм є водень, методи одержання якого на сьогодні є енергозатратними.

Мета роботи — розробка методу одержання водню або електричної енергії внаслідок очищення стічної води за використання мікробних паливних елементів (МПЕ). У такому пристрої відбувається одночасно очищення стічної води та продукування електричної енергії (водню).

МПЕ являє собою анодну та катодну камери, що розділені між собою протонпроникною мембраною. Анодом слугують гранули з пористого графіту на яких іммобілізовані мікроорганізми родів *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter sulfurreducens*, *Rhodospirillum rubrum*, які у процесі метаболізму за анаеробних умов продукують електрони і безпосередньо передають їх на анод та мікроорганізми — деструктори водних забруднень. Поживним середовищем слугують стічні води підприємств, що містять органічні речовини.

Іммобілізація мікроорганізмів проводиться з активного мулу. Авторами запропоновано формування початкового іммобілізованого шару мікроорганізмів на аноді здійснювати під дією електричного поля з додатковою різницею потенціалів на електродах у 0,3–0,5 В. Показано, що у МПЕ за використання таких анодів підвищується щільність заповнення мікроорганізмами поверхні анода, що зумовлює підвищення величини питомого струму в елементі з 0,1 до 0,3 мА/см². Одночасно з продукуванням електричної енергії досягається очищення стічної води від сполук органічної природи за хімічним споживанням кисню (ХСК) на 80–90%.

Одночасно з електронами, що продукують мікроорганізми і передають на анод у МПЕ, утворюються протони, які приймають участь в окисно-відновних процесах катодного простору МПЕ. Показано, що прикладаючи додаткову незначну напругу в МПЕ можливо безпосередньо одержувати водень. Виділення водню в МПЕ автори спостерігали у разі додаткової напруги більше 0,3 В і густині струму 0,15 А/м² на модельних стоках, що містять оцтову, пропіонову та молочну кислоти. Електрична енергія, яка необхідна для одержання водню у такий спосіб, складає 0,6 кВт/м³ Н₂, що значно менше, ніж для одержання водню в процесі електролізу води — 4,5–5 кВт/м³.

Електричне поле інгібує ріст і активність метаногенних мікроорганізмів, через це збільшується кількість H_2 -утворюючих бактерій. Кисень за такого процесу не утворюється, тобто не відбувається електролізу води. Електричний струм також сприяє гідролізу летких карбонових кислот, які виконують функцію електролітів, за розкладу яких мікроорганізмами в анодній камері також утворюється водень.

Описана технологія дозволяє вирішувати екологічні та енергетичні проблеми у вигляді водню, як хімічного енергоносія, та електричної енергії з відновлювальних джерел з одночасною утилізацією відходів антропогенного походження. Запропонований процес характеризується відсутністю потенційно небезпечних відходів, незначними енерговитратами, простотою експлуатації та можливістю впровадження як додаткової технології (наприклад, в системах утилізації відходів) з метою зниження собівартості продукції.

ОДЕРЖАННЯ ЗЛИТОГО ПРОТЕЇНУ SPA-CBD₂ ТА ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ СТВОРЕННЯ АФІННОГО СОРБЕНТУ

¹ГОРБАТЮК О. Б., ²ЦАПЕНКО М. В.

¹Київський національний університет
імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: gorbatuyk@ukr.net

²Інститут генетичної та регенеративної
медицини АМН України, Київ

Очищені імуноглобуліни широко застосовуються як у фундаментальних дослідженнях, так і на практиці. Тому актуальним є створення нових афінних сорбентів для отримання очищених фракцій імуноглобулінів із складних сумішей. Зазвичай, використовують афінні сорбенти, створені на основі імуноглобулінзв'язувальних протеїнів (протеїни А, G, L), найбільш розповсюдженим серед яких є поверхневий протеїн А *Staphylococcus aureus* (SPA). SPA складається з 5 високогомологічних доменів, кожен з яких здатний до специфічного зв'язування з Fc-доменами (константними доменами) та Fab-фрагментами імуноглобулінів класу G (IgG) і деяких IgM та IgA різних видів ссавців. Сьогодні, завдяки розвитку технологій рекомбінантних ДНК, протеїн А одержаний продукцією в *E. coli*, широко використовують в біотехнології.

Під час створення афінних сорбентів для очищення імуноглобулінів на основі SPA його іммобілізацію проводять на хімічно активованих матрицях. Така іммобілізація є неспецифічною і високо витратною. Генно-інженерне злиття ДНК-послідовності протеїну А з послідовністю целюлозозв'язувального домена (CBD), виділеного з целюлозолітичного комплексу *Clostridium thermocellum*, забезпечує біоафінне зв'язування злитого протеїну на целюлозі або хітині. Здатність CBD до специфічної взаємодії з вуглеводневим остовом целюлози забезпечує орієнтовану іммобілізацію молекули протеїну на матриці та експонування активних центрів зв'язування в положення, оптимальне для взаємодії з лігандом.

Метою роботи було створення генно-інженерного злитого протеїну на основі стафілококового протеїну А та двох целюлозозв'язувальних доменів (SPA-CBD₂), встановлення його функціональних характеристик та використання отриманого протеїну для створення біоафінного сорбенту.

У роботі були використані наступні методи: конструювання рекомбінантних ДНК; полімеразна ланцюгова реакція; електрофорез і секвенування ДНК; культивування і трансформація бактерій; експресія, електрофорез і виділення протеїнів; афінна хроматографія.

Сконструйовано молекулу рекомбінантного злитого протеїну SPA-CBD₂ та створено плазмідний вектор для його синтезу в бактеріях *E. coli*. Визначено умови ферментації, які забезпечують суперпродукцію SPA-CBD₂ в *E. coli* у розчинному стані. Внаслідок специфічного зв'язування з відповідними лігандами підтверджено функціональну активність протеїнів-партнерів злитого протеїну SPA-CBD₂. Показано перспективність створення для хроматографії біоафінного сорбенту, на основі гібридного протеїну, для очищення імуноглобулінів деяких видів ссавців.

SENSING INTERMOLECULAR INTERACTIONS IN PROTEINS, MEMBRANES AND LIVING CELLS IN FULL COLORS OF FLUORESCENCE EMISSION

DEMCHENKO A. P.

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

We developed a new generic fluorescence sensing technology based on the change of relative intensities between two well-separated emission bands of the novel functional 3-hydroxychromone (3HC) dyes. A greatly enhanced self-calibrating wavelength-ratiometric response is obtained to all major types of non-covalent interactions between molecules — to polarity, hydrogen bonding ability and to local electrostatic fields. The developed algorithms allowed to distinguish and characterize these interactions. We demonstrate new possibilities provided by this approach in protein, biomembrane and cellular research: (1). Ligand binding to proteins and enzyme-inhibitor interactions. (2). Temperature-dependent conformational transitions in heat shock proteins. (3). Pathology-related aggregation of α -synuclein. (4). Conformational transitions and variations of electrostatic potentials in membranes. (5). The surface potential changes on apoptosis. This technology may find a broad range of practical applications.

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ ГЕНА ПОЗИТИВНОГО
КОНТРОЛЮ СИНТЕЗУ ВІТАМІНУ B₂ У ДРІЖДЖІВ
Candida famata SEF1 ТА КОНСТРУЮВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ
ПРОДУЦЕНТІВ ЦЬОГО ВІТАМІНУ**

ДМИТРУК К. В., ЛИЗАК О. О., ЯЦИШИН В. Ю.,
ФЕДОРОВИЧ Д. В., БОРЕЦЬКИЙ Ю. Р., БОРЕЦЬКИЙ В. Ю.,
СИБІРНИЙ А. А.

*Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: dmytruk@cellbiol.lviv.ua*

Вітамін B₂ (рибофлавін) є водорозчинним вітаміном, що відіграє важливу роль у клітинному метаболізмі. Рибофлавін є ключовим компонентом коензимів — флавінмононуклеотиду (ФМН) та флавінаденіндинуклеотиду (ФАД), що залучені у різноманітних окисно-відновних реакціях. Рибофлавін виробляють для використання в медицині, у тваринництві та у харчовій промисловості.

На сьогодні відомий промисловий продуцент вітаміну B₂-флавіногенні дріжджі *Candida famata* der8, отримують методами класичної селекції, що зокрема використовується у США. Основним недоліком штаму der8 є його генетична нестабільність і реверсія до штамів, що нездатні до надсинтезу вітаміну B₂. Тому конструювання більш продуктивних дріжджових штамів за ознакою надсинтезу рибофлавіну, ідентифікація регуляторних генів, що спричиняють нездатність до надсинтезу вітаміну B₂ та нестабільність продуцентів цього вітаміну є актуальними проблемами.

Особливістю штаму der8 є його нездатність рости на середовищі з етанолом як джерелом вуглецю. Нездатність до надсинтезу рибофлавіну у нефлавіногенних ревертантів завжди корелює з відновленням росту на середовищі з етанолом. Така кореляція разом з методом інсерційного мутагенезу була використана для ідентифікації ключового гена, що спричинює нестабільність штаму der8. Встановлено, що пошкодження гена *SEF1*, що кодує потенційний транскрипційний фактор з невідомою функцією, призводить до нездатності до надсинтезу рибофлавіну та відновлення росту на середовищі з етанолом. Інактивація гена *SEF1* інших флавіногенних дріжджів *Pichia guilliermondii* призводить до аналогічного фенотипу. Також встановлено, що пошкодження гена *SEF1* суттєво обмежує ріст на середовищі з дефіцитом заліза, що свідчить про залучення даного гена у процес регуляції транспорту іонів заліза в клітину. Досліджено транскрипційну регуляцію даного гена у залежності від збагачення середовища іонами заліза. Ідентифіковано, що Sef1p безпосередньо активує експресію ключового структурного гена біосинтезу рибофлавіну *RIB1* (кодує ГТФ циклогідролазу II) шляхом взаємодії з його промоторною ділянкою.

Введення додаткової копії гена *SEF1* у геном промислового продуцента der8 обмежує ріст на середовищі з етанолом та підвищує стабільність сконструйованого штаму в 4 рази. Одержаний штам характеризується також підвищеним синтезом рибофлавіну в 2–2,5 рази у порівнянні з вихідним штамом. Іншим реципієнтним штамом у нашій роботі слугував надсинтетик рибофлавіну, штам *C. famata* AF-4, який отриманий за допомогою методів класичної селекції. Штам AF-4 лише незначно поступається в ефективності надсинтезу рибофлавіну промислового надпродуценту цього вітаміну, штаму der8. Одночасне посилення експресії генів *SEF1*,

ІМНЗ, що кодує інозинмонофосфатдегідрогеназу — ключовий ензим біосинтезу попередника гуанілових нуклеотидів, а також структурних генів біосинтезу рибофлавіну *RIB1* та *RIB7*, що кодують ГІФ циклогідролазу II та рибофлавінсинтазу відповідно, призводить до стимуляції синтезу рибофлавіну в 6 разів у порівнянні з вихідним штамом. Сконструйовані продуценти є перспективними штамми для біотехнологічного отримання рибофлавіну.

СКРИНИНГОВОЕ БИОТЕСТИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ ИЗ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ

КАЦЕВ А. М.

*Крымский государственный медицинский университет
им. С. И. Георгиевского, Симферополь, Украина;
e-mail: katsev@mail.ru*

Целью работы было создание методических основ для проведения скрининговых исследований биоцидных свойств различных веществ, с использованием морских светящихся бактерий. Такой способ биотестирования широко применяется в экологии для скрининга токсичности различных объектов окружающей среды, таких как водные среды, почва и т.п. Также он может быть использован в фармацевтических исследованиях для поиска и отбора лекарственных веществ с определенными видами биологической активности.

Основой для проведения работы послужила коллекция люминесцентных бактерий, выделенных из Азовского и Черного морей, которая включила в себя 20 штаммов четырех основных светящихся видов. Исследования показали, что выделенные бактерии обладают интенсивной биолюминесценцией и высокой чувствительностью к действию токсических факторов. Были отобраны штаммы наиболее чувствительные к ионам тяжелых металлов, поверхностно-активным веществам, лекарственным препаратам. Найдены условия проведения биотестирования, позволяющие оптимизировать чувствительность биотеста под конкретный вид токсикантов. Обнаружено, что ингибирование биолюминесценции бактерий происходит также под действием лекарственных препаратов с психотропной, антибиотической, антисептической или цитостатической активностью.

Проведен скрининг большого количества вновь синтезированных органических соединений — потенциальных лекарственных веществ. В результате выявлена группа веществ, обладающих ингибирующим действием на бактериальную люминесценцию, которая требует дополнительных испытаний на отмеченные выше виды биологической активности.

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ
ПРОГЕНЕРАТОРНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК
НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОКСИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

КЛИМОВА Е. М., ЗВЯГИНЦЕВА О. В., ВОТЯКОВА И. А.

*ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины», Харьков;
e-mail: o_zvyagintseva@mail.ru*

Известно целый ряд протекторов, направленных против формирования эндогенной интоксикации. В настоящее время изучается адаптогенное и протекторное действие различных биологических соединений. Представляет несомненный теоретический и практический интерес исследование прогенераторных клеток, обладающих способностью синтезировать биологически активные вещества в ответ на сигналинг факторов микроокружения реципиента. Целью нашего исследования было изучение протекторного эффекта, после внутрибрюшинного введения ксенотрансплантатов, гемопоэтических клеток у экспериментальных животных на фоне хронического введения сернокислой меди.

Материалом в исследовании служили лабораторные крысы ($n = 22$). Для оценки эндогенной интоксикации использовали иммунологические, спектрофотометрический и колориметрический методы определения уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), пептидов средней молекулярной массы (ПСММ), иммуноглобулинов, показателя лимфоцитотоксичности. Содержание протеина в различных электрофоретических фракциях сыворотки крови животных определяли методом электрофореза в полиакриламидном геле.

После токсического действия сернокислой меди у всех экспериментальных животных выявили достоверное увеличение (более чем в 2 раза) концентрации ЦИК, ПСММ и лимфоцитотоксичности, а иммуноглобулин G (Ig G) достоверно снизился по сравнению с контрольной группой. Показано, что эти изменения происходят на фоне изменения соотношения протеиновых фракций. После однократного введения гемопоэтических клеток концентрация ЦИК, ПСММ и лимфоцитотоксичность у экспериментальных животных были на уровне показателей контрольной группы животных, а Ig G компенсаторно повысился.

Таким образом, результаты эксперимента показали, что прогенераторные гемопоэтические клетки, увеличивая синтез иммуноглобулиновых антител и стрессорных протеинов, необходимых для коррекции иммунной системы, обладают протекторным действием.

ВПЛИВ ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ НА ФОРМУВАННЯ ЕМБРІОНІВ СВИНЕЙ В УМОВАХ *IN VITRO*

¹КОВТУН С. І., ²ГАЛАГАН Н. П.

¹Інститут розведення і генетики тварин НААН України,
с. Чубинське, Бориспільський р-н, Київська обл.;
e-mail: kovtun_si@gala.net;

²Інститут хімії поверхні НАН України, Київ;
e-mail: ucslhua@gmail.com

Відомо, що додавання в певних концентраціях до суспензій клітин різного типу високодисперсного кремнезему (ВДК), на базі якого створений адсорбент широкої дії «СИЛІКС», сприяє підвищенню їхньої життєздатності. Попри те, що механізм цього явища нерозкритий, ВДК та наноматеріали на його основі використовують для удосконалення біотехнології довгострокового зберігання генофонду тварин шляхом оптимізації деяких кріосередовищ. Зважаючи на метаболічну роль кремнію в живих системах, ми вважали за необхідне перевірити дію ВДК на ембріони свиней, оскільки підвищення їхньої життєвої активності є однією із задач клітинної інженерії та технології відтворення тварин. Тому метою роботи було дослідити можливість використання ВДК для оптимізації середовища при культивуванні *in vitro* ооцитів свиней.

Вивчено вплив на розвиток ембріонів свиней *in vitro* 0,1%-ї та 0,01%-ї концентрацій ВДК в середовищі 199 із додаванням 20% еструсної сироватки крові корів. Поверхню ВДК перед експериментом оброблено протягом 2 год при температурі 200 °С (1) або 400 °С (2), що визначає кількість ОН-груп, які є центрами адсорбції.

Встановлено, що при додаванні у середовище із ооцитами 0,1% ВДК(1) формуються зиготи *in vitro* на найвищому рівні – 55,0% (порівняно з контролем (50,2%) і з 0,1% ВДК (2) – 52,1%). Під час дослідження впливу 0,01% ВДК на ембріогенез свиней *in vitro* встановлено перевагу (1) за кількістю запліднених яйцеклітин свиней поза організмом (відповідно 65,8; 50,2 і 48,8%), порівняно з контролем і ВДК (2). Рівень дроблення зародків відповідно для (1), контролю і (2) становив – 60,8; 42,1 і 40,7%. Отже, наявність ВДК в середовищі прискорює процес дроблення зародків, що свідчить про стимуляцію метаболізму за певних концентрацій та залежно від температури обробки його поверхні. Є підстави вважати, що зазначений вище ефект дії ВДК на клітини пов'язаний із спонтанною іммобілізацією компонентів клітинного середовища, що сприяє пролонгації їхньої дії та забезпечує активацію метаболічних процесів в біологічній системі.

НАУКОВІ ОСНОВИ СТВОРЕННЯ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ ДЛЯ РОСЛИННИЦТВА

КУРДИШ І. К., РОЙ А. О., ЦЕРКОВНЯК Л. С.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, Київ*

Інтенсивне застосування в рослинництві хімічних добрив і засобів захисту рослин від хвороб і шкідників супроводжується зниженням якості рослинної продукції, негативним впливом на природні екосистеми, здоров'я людей та родючість ґрунту. Основним фактором, що визначає стан ґрунтів, ріст і розвиток рослин є функціонування мікробіоти. Поряд з мікроорганізмами, що підвищують родючість ґрунту і стимулюють врожайність рослин, в агроєкосистемах часто створюються умови для їхнього інтенсивного збагачення фітопатогенними мікроорганізмами та шкідниками рослин. Тому в останнє десятиліття в ряді країн все більшу увагу приділяють біологізації рослинництва, що в значній мірі досягається шляхом інтродукції в фітосферу високоактивних штамів бактерій з метою корекції в ній мікробних процесів. Для реалізації такого підходу створюються мікробні препарати для рослинництва, застосування яких позитивно впливає на ріст і розвиток рослин та їхню врожайність. Основна кількість таких препаратів є моноштамовими.

Нами та іншими дослідниками показано, що більш помітний позитивний вплив на ріст і розвиток рослин спричиняють препарати комплексної дії, які створюються шляхом використання двох чи більшої кількості штамів мікроорганізмів, що здатні реалізовувати різні механізми стимулюючого впливу на рослини. На основі взаємодії азотфіксувальних бактерій *Azotobacter vinelandii* IMB B-7076 та *Bacillus subtilis* IMB B-7023 з глинистими мінералами нами створений гранульований бактеріальний препарат комплексної дії, який характеризується стабільністю складу у разі тривалого зберігання, а також є зручним для застосування у ряді агроєкосистем. Цей препарат покращує азотне та фосфорне живлення рослин, стимулює їхній ріст та захищає від фітопатогенних мікроорганізмів. Його застосування в рослинництві значно покращує ріст і розвиток ряду видів технічних, декоративних, квіткових, злакових та овочевих рослин і дозволяє підвищити врожайність на 18–37%.

Ефективність використання мікробних препаратів у агроєкосистемах залежить від значної кількості абіотичних і біотичних факторів, взаємодії біологічних агентів з живими компонентами кореневої зони рослин. Така взаємодія, перш за все, відбувається завдяки синтезу біологічно активних речовин, які виділяють в ризосферу як рослини, так і інтродуковані мікроорганізми. Нами показано, що *Azotobacter vinelandii* IMB B-7076, введений до складу препарату комплексної дії, здатен виділяти в навколишнє середовище речовини індольної природи. Серед цих сполук важливим метаболітом, що може стимулювати ріст рослин, є індолілоцтова кислота. Вона накопичується у культуральному середовищі як у вільному, так і в зв'язаному стані. Крім цієї сполуки у даному середовищі ідентифіковані індол, 1-н-індол-3-карбоксальдегід та 1-н-індол-6-карбонова кислота. Деякі з них здатні стимулювати ріст певних біологічних компонентів агроєкосистем, а також пригнічувати ріст і розвиток найпростіших.

Фосфатмобілізувальні бактерії *Bacillus subtilis* IMB B-7023, які введені до складу препарату комплексної дії, здатні накопичувати в культуральному середовищі ряд амінокислот, а також речовини фенольної природи. Серед них методом хромато-мас-спектрофотометрії у найбільших кількостях виявлена фенілоцтова кислота, площа піку якої дорівнює 29%. В меншій кількості визначалась 4-гідроксифенілоцтова кислота (10,5%) і ще в менших концентраціях — гідроксиметил-2-фуранкарбоксамальдегід. Згідно з відомими даними, ці речовини можуть спричиняти позитивний вплив на ріст і розвиток рослин. Подальші дослідження синтезу біологічно активних речовин, інтродукованими в агроєкосистему бактеріями та біохімічних механізмів впливу цих мікроорганізмів на їхні компоненти, дозволить більш чітко регулювати перебіг процесів, що протікають в кореневій зоні рослин у разі застосування мікробних препаратів.

МАРКЕРЫ ДЛЯ ВИДОСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДЕТЕКЦИИ БАЦИЛЛ ГРУППЫ *Bacillus cereus*

^{1,2}ЛИМАНСКАЯ О. Ю., ¹ЛИМАНСКИЙ А. П.

¹ГУ «Институт микробиологии и иммунологии
им. И. И. Мечникова АМН Украины», Харьков;

²Национальный научный центр «Институт экспериментальной
и клинической ветеринарной медицины» НААН Украины, Харьков;
e-mail: olga.limanskaya@mail.ru

Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis* — член группы бацилл *B. cereus*, которая включает также *B. thuringiensis*, *B. cereus* и *B. mycoides*. Эти близкородственные бактерии являются патогенами животных (*B. anthracis* и *B. cereus*) и насекомых (*B. thuringiensis*). Группа *B. cereus* является одной из наиболее таксономически сомнительных групп бацилл. Детекция *B. anthracis* в образцах окружающей среды является сложной, поскольку вирулентные штаммы *B. anthracis* необходимо отличить от непатогенных штаммов *B. anthracis* и других близкородственных видов.

В данной работе на основе компьютерного анализа генов хромосомной ДНК *B. anthracis*, *B. cereus* и *B. thuringiensis* проанализированы последовательности и построены филогенетические деревья для генов и фрагментов генов *rpoB* и *guy* хромосомной ДНК бактерий группы *B. cereus*. Это позволило определить молекулярно-генетические маркеры для их детекции и разработать наборы праймеров для видоспецифической дифференциации *B. anthracis* от близкородственных видов *B. cereus* и *B. thuringiensis* с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции.

Принято считать, что на филогенетическом дереве должно присутствовать такое количество кластеров, четко отделенных один от другого и соответствующих числу видов или подвидов, для которых была построена дендрограмма. Важно отметить, что в случае корректного генотипирования изоляты одного вида находятся в пределах одного кластера.

На всех построенных дендрограммах на основе генов *rpoB* и *guy* для трех видов *Bacillus sp.* установлено, что изоляты *B. anthracis* образуют отдельные класте-

ры, штаммы которого не пересекаются с изолятами *B. cereus* и *B. thuringiensis*. В отличие от штаммов *B. anthracis*, изоляты *B. cereus* и *B. thuringiensis* (отнесенные к указанным видам согласно современной классификации) не образуют отдельные кластеры, а некоторые из них являются филогенетически более близкими штаммам *B. thuringiensis* и *B. cereus* соответственно.

Таким образом, построение филогенетического дерева, даже на основе фрагмента гена, а не его полной последовательности, может служить своеобразным показателем надежности и точности таксономической классификации видов или подвидов патогенов.

СОЗДАНИЕ, ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ В КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ НОВОГО КРАСНОГО ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО ПРОТЕИНА TagRFP657

¹МОРОЗОВА Е. С., ¹ПЕРСКИЙ Е. Э., ²ВЕРХУША В. В.

¹Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;

²Медицинский колледж имени Альберта Эйнштейна, Нью-Йорк, США;

e-mail: kmorozova@rambler.ru

В настоящее время большое теоретическое и практическое значение представляет создание новых красных флуоресцентных протеинов (ФП) с длиной волны флуоресценции свыше 650 нм. Такие ФП способны повысить чувствительность детекции флуоресценции, поскольку автофлуоресценция клеток уменьшается с увеличением длины волны.

Из исходного гена ФП mKate (максимумы возбуждения 588 нм и флуоресценции 635 нм), с применением стратегии чередования этапов случайного и направленного мутагенеза, создан новый красный ФБ TagRFP657 с максимумами возбуждения и флуоресценции 611 и 657 нм соответственно. Установлено, что аминокислотная (АК) последовательность протеина TagRFP657 отличается от исходного mKate заменами десяти АК остатков, а именно Lys9Thr, Met44Gln, Lys69His, Phe84Try, Ser148His, Ser165Thr, Asp166Ala, Met167Leu, Leu181Phe и Arg203Tyr.

Определены основные фотохимические характеристики TagRFP657: квантовый выход равен 0,1; молярный коэффициент экстинкции — $34000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$; рН-стабильность с величиной pK_a — 5,0; полувремя фотообесцвечивания — 55 с; полувремя созревания при 37 °С — 125 мин.

С целью оценки возможностей применения TagRFP657 в клеточной биологии, созданы протеины слияния TagRFP657 и одного из клеточных протеинов: β -актина, паксиллина, кератина, гистона-2В, виментина, α -актинина, α -тубулина, протеина EB3 или миозина, а также лизосомного или митохондриального направляющих пептидов. Отмечена правильная внутриклеточная локализация всех 11-ти конструкций слияния, отсутствие агрегатов и высокая чувствительность детекции красной флуоресценции. Показано, что ФП TagRFP657 может успешно применяться в проточной цитофлуориметрии с применением стандартных красных лазеров с излучением 633 нм и 638 нм как новый дополнительный красный цвет.

ОДЕРЖАННЯ АНТИТІЛ ПРОТИ ПОВЕРХНЕВИХ КЛІТИННИХ БІОМАРКЕРІВ НА ПРИКЛАДІ ПОВЕРХНЕВОГО КЛІТИННОГО АНТИГЕНУ CD34 ЛЮДИНИ

НІКОЛАЄВ Ю. С., ГОРБАТЮК О. Б.

*Інститут генетичної та регенеративної медицини АМН України, Київ;
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: ulian_s@ukr.net*

Метою даної роботи була розробка способів одержання поліклональних та рекомбінантних одноланцюгових антитіл проти поверхневого клітинного маркера CD34 людини, встановлення функціональних характеристик одержаних антитіл, а також дослідження можливості їхнього використання для імунодетектування популяції CD34⁺ клітин.

Рекомбінантний зовнішньоклітинний фрагмент CD34 людини (rhExCD34) було клоновано та експресовано у клітинах *E. coli*, розроблено ефективний спосіб його очищення та рефолдування з тілець включення методом іммобілізаційної метал-афінної хроматографії. Очищений рекомбінантний протеїн використовували для імунізації мишей і кролів. Афінне очищення поліклональних антитіл з сироваток імунізованих тварин проводили методом афінної хроматографії, застосовуючи носій з іммобілізованим rhExCD34. Зв'язування одержаних антитіл з клітинним антигеном тестували методами імуноцитохімії та проточної цитометрії.

Для одержання комбінаторної бібліотеки V-генів імуноглобулінів, мРНК виділяли зі спленоцитів імунізованих мишей та використовували для синтезу кДНК генів V_H та V_L імуноглобулінів, які поєднували лінкерною ДНК за допомогою ПЛР, лігували з вектором та трансформували клітини *E. coli*. Афінне збагачення бібліотеки проводили із використанням біопенінгу на клітинах. Відбір продуктів цільових антитіл проводили методами імуноензимного та флуоресцентного аналізу. Відібрані антитіла секвенували та аналізували на здатність зв'язуватися із CD34⁺ клітинами.

Запропонована стратегія одержання антитіл проти поверхневих клітинних маркерів дозволяє одержувати антитіла, що мітять антиген-позитивні клітини та можуть бути використані для імунодетектування методами імуноцитохімії та проточної цитометрії.

ИНДУКЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ *IN VITRO* МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ИНСУЛИНПРОДУЦИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ

¹ПЕТРЕНКО Ю. А., ¹ПЕТРЕНКО А. Ю., ¹МАЗУР С. П.,
²БЛОХ К., ²ВАРДИ П.

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины, Харьков, Украина;

²Университет Тель-Авива, Петах-Тиква, Израиль;

e-mail: alexander_petrenko@cryo.org.ua

Мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани (МСК ЖТ) обладают высоким, и до настоящего времени неполностью изученным, дифференцировочным потенциалом, что позволяет их рассматривать в качестве перспективного источника получения инсулинпродуцирующих клеток (ИПК) для замещения бета-клеток поджелудочной железы, поврежденных в результате развития сахарного диабета 1 типа.

Целью работы явилось изучение способности мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека дифференцироваться в инсулинпродуцирующие клетки под влиянием индуцирующих факторов.

МСК выделяли энзиматическим методом из жировой ткани взрослого человека в соответствии с этическими нормами. Индукцию дифференцировки в ИПК проводили при культивировании МСК ЖТ в среде с высоким содержанием глюкозы в присутствии или в отсутствие экстракта регенерирующей поджелудочной железы крыс или экстракта поджелудочной железы новорожденных поросят. Эффективность дифференцировки МСК ЖТ в ИПК определяли по окрашиванию культур дитизоном, иммуноцитохимически по экспрессии инсулина и проинсулина, а также по содержанию внутри- и внеклеточного инсулина иммуноферментным методом.

В ходе культивирования в присутствии индукторов МСК ЖТ приобретали эпителиоподобную морфологию и образовывали кластеры. Часть клеток в моно-слое и в составе кластеров демонстрировали позитивное окрашивание антителами к инсулину и проинсулину, а также окрашивались дитизоном, агентом, который селективно связывается с панкреатическими β -клетками. Сравнительный анализ данных, полученных с использованием разных индуцирующих факторов, свидетельствует о том, что присутствие экстракта поджелудочной железы новорожденных поросят в наибольшей степени способствует дифференцировке МСК ЖТ в ИПК. Это подтверждается результатами изучения способности клеток, дифференцированных в присутствии экстракта поджелудочной железы новорожденных поросят, синтезировать и секретировать инсулин.

Работа выполнена при поддержке Україно-Ізраїльського гранта № ГР 0109U004664.

ШЛЯХ FHIT-NIT1 СУПРЕСІЇ ПУХЛИННОГО РОСТУ *IN SILICO*

СИДОРОВИЧ І. Б.

Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: inn_bohdan@yahoo.com

Безпека застосування генної терапії може бути помітно обмежена невідповідністю функцій ксенологічних генів, що може викликати неспрогнозовані побічні ефекти. Метою роботи було оцінити *in silico* безпеку заміщення гена Fhit при антираковій терапії. Актуальність цієї роботи викликана дуже приблизним переліком функцій Fhit та Nit генів внаслідок різної будови їхніх геномних локусів навіть у Metazoa.

В даній роботі проведено аналіз функцій компонентів Fhit-Nit тумор-супресорного шляху із врахуванням їхнього геномного оточення в одноклітинних та Metazoa. Хоча ген Fhit займає біля 1 Мб хромосомної ДНК, відомо, що внаслідок ракових захворювань найчастіше виникають мутації на ділянці п'ятого екзона або п'ятого інтрона. Було проведено пошук гомологічних послідовностей, і несподівано виявилось, що саме ця ділянка має високу гомологію до дріжджових аналогів гена Fhit — гідролаз динуклеозидтрифосфатів, хоча відомо, що ензиматична активність не має відношення до тумор-супресорної функції Fhit протеїну. Одержані результати свідчать про те, що у одноклітинних грибів цей протеїн виконує ще й інші функції.

Крім того показано, що ген, який кодує компонент тумор-супресорного шляху Nit, в деяких одноклітинних грибах розміщений поруч з ABC-транспортером, гомологічний до BCRP протеїну, першого активного експортера рибофлавіну у ссавців, надекспресія якого є однією з причин MDR (multiple drug resistancy) ракових клітин.

Шлях дивергенції генів Fhit та Nit у Metazoa привів до розділення цих генів у людини, подібно, як у нижчих евкаріот; хоча у деяких Metazoa вони кодують злитий протеїн. Водночас спільна регуляція суміщених у нижчих евкаріот компонентів Nit та гомолога BCRP протеїну залишилася і у людини.

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ГРИБІВ, ЩО ВИЯВЛЯЮТЬ РАДІОАДАПТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ В УМОВАХ ОПРОМІНЕННЯ

ТУГАЙ Т. І.

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, Київ;
e-mail: tatyanaatugay2@gmail.com

У попередніх дослідженнях було встановлено, що у ряду видів мікроскопічних грибів, що були виділені з Чорнобильської зони відчуження, сформувалися радіоадаптивні властивості та здатність позитивно реагувати на дію іонізуючого

опромінення. Радіоадаптивні властивості були нами виявлені в рівній мірі як у темнопігментованих (меланінвмісних) так і у світлопігментованих видів грибів. Метою даної роботи було порівняльне вивчення функціонування антиоксидантної системи у штамів світлопігментованого (*Paecilomyces lilacinus*) та меланінвмісного (*Cladosporium cladosporioides*) видів мікроміцетів, що проявляли радіоадаптивні властивості, за умов хронічної дії іонізуючого опромінення. Дослідження впливу іонізуючого опромінення на синтез меланінових пігментів та активність антиоксидантних ензимів супероксиддисмутази та каталази проводили в логарифмічній і стаціонарній фазах росту в раніше створеній модельній установці, що імітувала радіоактивність ґрунту Чорнобильської зони. Показано, що у світлопігментованому штамі *P. lilacinus* 1941, що проявляє радіоадаптивні властивості, іонізуюче опромінення практично не впливає на активність СОД в логарифмічній фазі росту і дещо пригнічує її в стаціонарній, а у контрольному штамі *P. lilacinus* 101 активність СОД суттєво пригнічується. У штамів темнопігментованого виду *C. cladosporioides* під час дії іонізуючого опромінення спостерігається підвищення загальної активності СОД в обох фазах росту. У світлопігментованих штамів *P. lilacinus* виявлено високий рівень позаклітинної каталазної активності в обох фазах росту. У штаму *P. lilacinus* 1941, що проявляє радіоадаптивні властивості, у логарифмічній фазі росту виявлено в 3 рази більший рівень позаклітинної каталазної активності, порівняно зі стаціонарною. Водночас у штамів темнопігментованого виду виявлено значно нижчий рівень позаклітинної каталазної активності у стаціонарній фазі росту, тоді як у логарифмічній вона практично відсутня.

Таким чином, виявлено суттєві відмінності в функціонуванні антиоксидантної системи у досліджених світло- та темнопігментованих видів мікроміцетів в умовах опромінення та без нього.

METABOLIC AND MOLECULAR RESPONSES OF *Carassius auratus gibelio* ON THE EFFECT OF LOW AND ACUTE TOXIC CONCENTRATIONS OF ORGANOMETALLIC FUNGICIDE

*FALFUSHYNSKA H. I., MUDRA A. Y., GNATYSHYNA L. L.,
STOLIAR O. B.*

*Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine;
e-mail; halynka.f@gmail.com*

The increasing uncontrolled use of pesticides in transition countries, particularly in Ukraine, makes it necessary to reveal their toxic risk in non-target organisms. Few studies have been carried out on the toxicity of dithiocarbamates containing heavy metals, commonly used fungicides. The objective of this investigation was to examine the effect of mancozeb (Mn- and Zn-containing dithiocarbamate, commercial substance TATTU) in subchronic (0.005, 0.015 (MPC) and 0.050 mg L⁻¹) and acute toxic (2.0, 3.0, 4.0 (LC₅₀ for carp), 5.0, 25.0 and 50.0 mg L⁻¹) concentrations on the molecular systems of stress and detoxification in fish *Carassius auratus gibelio*. Weather differences in a suite of biomarker assays in fish could be related to the pollution histories of two locations, the effect

of subchronic concentrations of mancozeb was studied in fish from clean (reference, R) and chronically polluted by municipal and agricultural wastes (P) sites after 14 days of exposure.

A battery of markers included markers of oxidative stress, concentration of metallothionein (MT), Zn and Mn in the tissues, activity of biotransformation system (ethoxresorufin-*O*-deethylase (EROD) and glutathione-S-transferase (GST)), lysosomal membrane stability (cytotoxicity) in the liver, cholinesterase (ChE) activity (neurotoxicity) in different tissues, micronuclei (genotoxicity) in the erythrocytes, and vitellogenin-like protein (Vtg-LP) level (endocrine disruption) in plasma.

Carassius demonstrated a remarkably higher tolerance to mancozeb than carp. LC_{50} for 96 hours of exposure was 50 mg L^{-1} . Unexpectedly, the determination of ChE activity indicated its decreasing only in the liver and gills, whereas in brain and white muscle it increased sometimes. Most effective for the decreasing or increasing of ChE activity concentrations were 0.015 and 4.0 mg L^{-1} correspondingly. Genotoxicity and cytotoxicity of mancozeb elevated significantly by even 0.015 mg L^{-1} , but remarkably only by the effect of 3.0 and 5.0 mg L^{-1} .

The comparison of fish from two sites demonstrated lower levels of Mn, activity of Cu,Zn- and Mn-superoxide dismutase (SOD), catalase, and higher levels of lipid peroxidation (LPO), ChE and MT in fish from site P compared to the counterpart. The effect of mancozeb at lower concentrations provoked in the fish from site R the decrease of the levels of Mn, Zn and Vtg-LP, activities of ChE, GST and antioxidant enzymes, opposite to their changes at site P. At the same time, EROD activity, MT and micronuclei concentration increased in the fish from both sites, but particularly at site P. LPO was low-sensitive to the effect of mancozeb. In general, most injury and best adaptation to toxicity were reflected in the fish from site R under the lower concentration and from site P under the higher concentration of mancozed correspondingly.

The most important finding was the high tolerance of Carassius to the acute concentrations but site-dependent sensitivity to low concentrations of mancozeb of markers of neurotoxicity, endocrine disruption and biotransformation, expected to be sensitive to this organomanganese fungicide. In general, it has been proved that organisms inhabiting ecosystems subjected to severe chemical stress should be well equipped with decontamination mechanisms to cope with various kinds of industrial pollutants.

This work has been granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (#M/256-2008, #M/567-2009) and West-Ukrainian Biomedical Research Centre.

ЕКСТРАЦЕЛЮЛЯРНА ПРОТЕОЛІТИЧНА ТА ЛЕКТИНОВА АКТИВНІСТЬ *Bacillus subtilis* 6633

ХУДА Л. В., ВАСІНА Л. М.

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

Бактерії роду *Bacillus* є ефективними продуцентами біологічно активних речовин серед яких знаходяться позаклітинні протеолітичні ензими, що каталізують гідроліз широкого спектра протеїнових субстратів та проявляють свою активність

за різних значень рН і лектини, які можуть використовуватись як лікарські засоби або їхні носії.

Мета роботи полягала у визначенні протеолітичної активності ензимного препарату та дослідженні властивостей лектинового комплексу, виділених з культурального середовища *Bacillus subtilis* 6633.

Досліджуваний штам здатний виділяти у середовище протеїнази, що виявляють казеїнолітичну та гемоглобінолітичну активність при рН 5,5; 7,5; 9,5. Найвищі показники виявлені у разі гідролізу казеїну в лужному середовищі — активність в 2,5–5,0 разів перевищує відповідні значення для нейтральних та слабокислих значень рН і досягає свого максимуму у стаціонарну фазу росту бактерій. Протеолітична активність при рН 5,5 виявилась слабовираженою та малозмінною протягом усього періоду культивування. Тобто, досліджуваний штам *B. subtilis* 6633 здатний виділяти в середовище переважно лужні протеїнази, що гідролізують як казеїн, так і гемоглобін.

Встановлено, що оптимальними умовами культивування бацил з метою отримання позаклітинних лектинів, є температура 35 °С та слаболужне рН середовища (рН = 8). Максимум активності позаклітинних лектинових комплексів досліджуваного штаму, визначеної за реакцією гемаглютинації, реєструється на 5–6 добу культивування (128 гемаглютинуючих одиниць). Вивчення впливу лектинових комплексів, виділених з культурального середовища *B. subtilis*, показало їхню різноспрямовану дію на клітини прокаріот та еукаріот. За умов лунко-дифузного методу зафіксовано інгібуючий вплив комплексу на розвиток *E. coli* (діаметр зон лізису $7 \pm 0,7$ мм), аглютинуючу дію щодо клітин нижчих еукаріот та низький токсичний ефект на лімфоцити (виживання 92% після 4-годинної інкубації).

Отже, слаболужні умови культивування досліджуваного штаму *B. subtilis* 6633 забезпечують формування найвищої екстрацелюлярної протеолітичної та лектин-продукуючої активності.

РЕКОМБІНАНТНІ ІМУНОКОН'ЮГАТИ НА ОСНОВІ ОДНОЛАНЦЮГОВИХ АНТИТІЛ ТА БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЛУЖНОЇ ФОСФАТАЗИ

¹ЦАПЕНКО М. В., ²ФЛЯК А. І., ²ГОРБАТЮК О. Б.,
³ПАВЛОВА М. В.

¹Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ;

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

³Інститут генетичної та регенеративної медицини АМН України, Київ;
e-mail: mtsapenko@ukr.net

Моноклональні антитіла, кон'юговані з ензимами, є цінними імунологічними реагентами, які широко використовуються в медичній та лабораторній практиці. Кон'югацію антитіл з ензимами традиційно здійснюють шляхом їхнього хімічного об'єднання. Проте це є тривалим та високозатратним процесом, тому такі імунокон'югати мають дуже високу вартість. Сучасні генно-інженерні технології дозволяють створювати генно-інженерні аналоги моноклональних антитіл і прово-

дити їхню химеризацію з іншими протеїнами-партнерами на рівні послідовностей ДНК. У подальшому такі химерні протеїни можуть бути синтезовані в бактеріях з використанням стандартних схем ферментації та недорогих поживних середовищ. Зважаючи на це, привабливою альтернативою існуючому способу одержання імунореагентів є створення генно-інженерних кон'югатів шляхом химеризації рекомбінантних фрагментів антитіл з ензимами. Одним з найбільш перспективних ензимів для химеризації є бактеріальна лужна фосфатаза (BAP, bacterial alkaline phosphatase), яка має високу стабільність та природну здатність до димеризації. Останнє підвищує авідність імунокон'югатів, створених на її основі.

Метою роботи було створення генно-інженерних імунокон'югатів, на основі одержаних нами раніше одноланцюгових антитіл (scFv, single-chain fragment variable), специфічних до декількох обраних антигенів та бактеріальної лужної фосфатази з підвищеною ензиматичною активністю (BAP_{mut}, або BAP mutated), а також дослідження можливості їхнього використання для імунодетекції.

У роботі використано наступні методи: конструювання рекомбінантних ДНК, спрямований мутагенез ДНК, ПЛР, електрофорез ДНК та протеїнів, секвенування ДНК, ELISA, імуноблотинг.

Для одержання BAP_{mut} її нуклеотидну послідовність було ампліфіковано з хромосомної ДНК *E. coli* та проведено спрямований мутагенез із замінами D153G, D330N. Проведено інтерактивний дизайн та створено рекомбінантні плазмиди, які використано для продукування scFv-BAP_{mut} у бактеріях *E. coli*. Встановлено, що накопичення химерного протеїну відбувається у периплазмі клітин *E. coli* та культуральній рідині. Показано функціональну активність обох компонентів scFv-BAP_{mut}. Продemonстровано можливість застосування імунокон'югатів scFv-BAP_{mut} для ELISA, вестерн-блотингу та імуноцитохімії.

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТІВ З *Arnica montana*, *Potentilla erecta*, *Sophora japonica* НА КУЛЬТУРИ ЛІНІЙ КЛІТИН *IN VITRO*

¹ШЕМЕДЮК Н. П., ²КЛЮЧІВСЬКА О. Ю., ¹БУЦЯК В. І.

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, Україна;

²Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: natshem@bigmir.net

Відомо, що механізми протипухлинної дії флавоноїдів включають модуляцію сигнальних шляхів, залучених до регуляції проліферації пухлинних клітин, індукцію апоптозу або диференціювання клітин, а також інгібування ангіогенезу та подолання лікарської резистентності. Метою проведених досліджень було тестування екстрактів із *Arnica montana*, *Potentilla erecta*, *Sophora japonica* в порівнянні з *Echinacea purpurea*. Встановлено, що найвищу цитотоксичну активність щодо клітин аденокарциноми молочної залози людини MDA-MB-231 та аденокарциноми молочної залози миші 4T1 мають екстракти *Arnica montana* та *Potentilla erecta*. За концентрації екстрактів 1–10 мкл/мл у середовищі клітин MDA-MB-231 упродовж

першої доби відбувається рефракція моношару клітин у культурі і пригнічення їхньої проліферації. На 72-й год досліду відмічається майже повна загибель культури за дії цих доз і цитостатичний вплив за дії 0,1 мкл/мл середовища. Лінія пухлинних клітин 4T1 є менш чутливою до цитотоксичної дії *Potentilla erecta*. За дії екстракту в концентрації 0,1–1 мкл/мл з'являються проапоптичні зміни у морфології поодиноких клітин та збільшення кількості гігантських клітин за концентрації 0,1 мкл/мл. Вплив екстрактів *Arnica montana* та *Potentilla erecta* на популяцію деморталізованих фібробластів миші лінії BALB 3T3 проявляється лише за концентрації 10 мкл/мл середовища і вище. Переважаюча цитостатична активність екстракту *Sophora japonica* виявляється за концентрацій 1–10 мкл/мл середовища. Проліферація клітин лінії MDA-MB-231 припиняється вже на 24-ту год культивування і до 14-ої доби невелика кількість клітин відмирає. За морфологічними ознаками клітини за дії екстракту *Sophora japonica* відрізняються збільшеними розмірами. Для популяції 4T1 характерні проапоптичні зміни у морфології окремих клітин за дії екстракту *Sophora japonica* за концентрації 0,1 мкл/мл у середовищі. Цей екстракт спричиняє інгібування росту пухлинних клітин, але не виявляє пошкоджуючої дії на ріст і життєздатність фібробластів BALB 3T3. Дія екстракту *Echinacea purpurea* (для порівняння) на досліджувані клітини полягає в інгібуванні проліферації за максимальної діючої концентрації на клітинні лінії миші та інгібуванні проліферації MDA-MB-231 за усіх діючих концентрацій упродовж перших 72 год. За результатами проведених досліджень можна зробити висновок про перспективність подальших досліджень біологічно активних речовин екстрактів *Arnica montana*, *Potentilla erecta*, *Sophora japonica* як таких, що виявляють антинеопластичну дію.

ЦИТО- І ГЕНОТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ КОЛОЇДНИХ НАНОПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ Ag ТА Au НА ПЕРВИННІ КУЛЬТУРИ КЛІТИН

ШМАРАКОВ І. О.

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

Перспективним напрямком сучасної біологічної науки виявляється застосування нанорозмірних препаратів на основі золота і срібла, що поширюються від візуалізації клітинних структур до створення векторних систем доставки лікарських препаратів. Водночас, це потребує знання молекулярних механізмів, що лежать в основі їхньої метаболічної активності, біодоступності та можливого токсичного впливу на біологічні системи. Мета роботи — провести скринінгову оцінку цито- і генотоксичності наночастинок на основі Ag та Au, а також біметалічного наноконструкту на первинні культури лімфоцитів, гепатоцитів та клітин карциноми Герена *in vitro*. Цитотоксичність оцінювали на основі рівня життєздатних клітин після кокультивування з наночастинами в тестах з трипановим синім, МТТ, ЛДГ-«витоку». Рівень деструкції клітинних біомолекул визначали методом ДНК-комет

і на основі рівня ТБК-активних продуктів, протеїнових SH-груп та карбонільних похідних.

Встановлено, що досліджувані наночастинки виявляють значну цитотоксичність і вже на 6-ту годину кокультивування викликають зниження рівня життєздатних клітин від 47% (лімфоцити) до 62% (гепатоцити). Високі показники ЛДГ-«витоку» та накопичення ТБК-активних продуктів поряд з низьким рівнем окислювальної деструкції протеїнів та збереженням інтактності ядерної ДНК (переважання комет C_0 - C_2) свідчили, що первинним механізмом виявленої цитотоксичності було порушення структурно-функціональної цілісності мембранних структур клітини. Внаслідок подальшого культивування (48 год) у нормальних клітинах (лімфоцити, гепатоцити), одночасно зі збереженням рівня метаболічної активності, спостерігалось відновлення досліджуваних показників до контрольного рівня, тоді як у клітинах карциноми Герена виявлялися ознаки розвитку оксидативного стресу, виражені у зростанні ТБК-активних продуктів, карбонільних похідних протеїнів, пошкодженні ядерної ДНК (переважання комет C_3 - C_4 , Ідк = 3,2) та зниженні метаболічної активності. У цьому разі найвищу токсичність щодо пухлинних клітин при відносно низькій токсичності щодо гепатоцитів та лімфоцитів має біметалічний наноккомпозит Ag/Au.

Робота підтримана грантом Президента України для молодих учених.

ВИКОРИСТАННЯ ПІДХОДІВ МЕТАБОЛІЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ ДЛЯ КОНСТРУЮВАННЯ НАДПРОДУЦЕНТІВ ФЛАВІНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ

***ЯЦИШИН В. Ю., ІЩУК О. П., ФЕДОРОВИЧ Д. В.,
СИБІРНИЙ А. А.***

*Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: yatsyshyn.v@gmail.com*

Рибофлавін (РФ; вітамін B_2) виконує свої метаболічні функції переважно у вигляді флавінмононуклеотиду (ФМН) та флавінаденіндинуклеотиду (ФАД) у складі флавіновмісних протеїнів. Відомо сотні флавопротеїнів, більшість із яких містять нековалентно зв'язані ФАД чи ФМН або обидві форми флавінів. Флавіни задіяні у різних ланках метаболізму клітини, тому порушення в обміні флавінових коензимів призводять до серйозних змін на клітинному та тканинному рівнях. Флавінові коензими (зокрема ФМН) мають вищий від РФ терапевтичний потенціал у разі лікування деяких захворювань (дерматози, захворювання очей). ФМН, як активна форма вітаміну B_2 , входить до складу вітамінних препаратів та харчових барвників. Широке застосування коензимних форм вітаміну B_2 гальмується їхньою високою вартістю та відсутністю активних промислових продуцентів ФМН і ФАД.

На даний момент в Україні відсутнє виробництво вітаміну B_2 та його похідних біологічно активних форм — ФМН і ФАД. Основною перевагою мікробіологічного синтезу флавінових нуклеотидів є відсутність утворення побічних продуктів, які можуть мати небажану біологічну активність. Конструювання продуцентів ФМН

та ФАД на основі флавіногенних дріжджів дасть змогу використати їх для промислової продукції цих коензимів.

Розроблено схему генно-інженерного конструювання штамів дріжджів, здатних до нагромадження в культуральній рідині ФАД та (або) ФМН, в якій застосовано ряд оригінальних підходів: експресія цільових генів під контролем сильного промотора; введення в геном однієї або кількох копій цільових генів; використання реципієнтних штамів, що здатні до надпродукції РФ; виявлення факторів, важливих для оптимізації синтезу флавінових нуклеотидів. Встановлено, що експресія генів *FMN1* (кодує РФ-кіназу) та *FAD1* (кодує ФАД-синтетазу) флавіногенних дріжджів *Debaryomyces hansenii* під контролем сильного конститутивного промотора *TEF1* (фактора елонгації трансляції $\alpha 1$) в клітинах дріжджів *Candida famata* веде до значного підвищення активності ензимів, які вони кодують. А саме підвищується питома активність РФ-кінази (до 200 разів), зростає питома активність ФАД-синтети (7–15 разів), а також зростає продукція флавінових нуклеотидів.

За допомогою методів математичного моделювання експериментів виявлено, що факторами, необхідними для нагромадження ФМН у культуральній рідині є джерело азоту (сечовина), дріжджовий екстракт, а також іони PO_4^{3-} , Ca^{2+} , Cu^{2+} та $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$, для нагромадження ФАД — джерела азоту $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та гліцин), аденін та іони PO_4^{3-} . Внаслідок оптимізації лише складу середовища культивування вдалося додатково підвищити синтез ФМН у 29–36 разів, а ФАД — у понад 28 разів. Результати перевірки теоретичних моделей в експерименті показали, що використання оптимізованого середовища помітно покращує продукцію ФМН і ФАД рекомбінантними штамми *C. famata*. Отримані штами здатні до нагромадження близько 385 мг/л ФМН або близько 450 мг/л ФАД при інкубації в ферментері.

Розроблена метаболічно-інженерна схема конструювання та подальшого покращення продуцентів ФМН і ФАД є передумовою для отримання ефективних промислових надсинтетиків флавінових нуклеотидів.

СТЕНДОВІ ПОВІДОМЛЕННЯ

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ

АБДУРАМАНОВА Э. Р., ФЕДОТОВА А. А., КАЦЕВ А. М.

*Крымский государственный медицинский университет
им. С. И. Георгиевского, Симферополь, Украина;
e-mail: katsev@mail.ru*

Для качественного и количественного определения токсических веществ используют инструментальные методы. В последнем случае о токсичности судят по превышению предельно допустимых концентраций токсикантов. Хотя в настоящее время более приоритетным направлением при анализе биоцидности (токсичности) является биотестирование. Среди существующих биотестов особое место занимают морские светящиеся бактерии, которые сочетают в себе преимущества биотеста и инструментальных способов регистрации аналитического сигнала. В этом биотесте токсичность определяется по изменению интенсивности биолюминесценции, которая является количественным показателем жизнедеятельности бактериальной клетки и дает возможность оценить интегральное влияние среды на живой организм. Более совершенными являются биосенсорные системы, которые предусматривают применение иммобилизованных бактерий, что позволяет проводить анализ в режиме on line.

Цель настоящего исследования состояла в оценке аналитических характеристик биосенсорных систем на основе иммобилизованных люминесцентных бактерий.

В работе были использованы морские светящиеся бактерии из коллекции Крымского государственного медицинского университета, идентифицированные как *Photobacterium phosphoreum* F2, *P. leiognathi* Sh1, *Vibrio fischeri* F1, *V. harveyi* Ms1. В качестве анализируемых веществ были выбраны две соли тяжелых металлов (CuCl_2 , ZnCl_2), которые одновременно являются международными стандартами при работе со светящимися бактериями. Сорбцию бактерий осуществляли на оксиде алюминия. Биотестирование проводили по методике определения острой токсичности с регистрацией интенсивности биолюминесценции с помощью биолюминометра БЛМ 8801 (СКТБ «Наука», Россия). Все исследования повторялись шестикратно и статистически обрабатывались с 95% доверительной вероятностью.

Определены аналитические характеристики систем со связанными и свободными бактериями. Так, например, нижние пределы обнаружения ионов тяжелых металлов в зависимости от штамма используемых бактерий варьируют от 0,05 до 0,5 мг/л для ионов меди и от 0,1 до 1 мг/л для ионов цинка. Отмечено, что фотобактерии всех рассмотренных штаммов в адсорбированном и свободном виде проявляют подобную чувствительность к действию токсичных факторов. Обнаружено повышение значений относительных ошибок измерений аналитического сигнала, отвечающего концентрации ионов металлов, находящейся в пределах второй фазы калибровочной кривой, которая характеризуется медленным снижением биолюми-

несценции. Отмечено, что максимальная воспроизводимость результатов характерна для линейных участков кривых, ограниченных в случае использования штаммов бактерий *V. fischeri* F1 и *P. phosphoreum* F2 50%-ым, а в случае *V. harveyi* Msl и *P. leiognathi* Sh1 – 70%-ым ингибированием биолюминесценции бактерий, относительные ошибки измерений которых не превышают 20%.

Результаты анализа свидетельствуют о необходимости строгого соблюдения алгоритма экспериментальной работы, так как на чувствительность, точность и воспроизводимость результатов биотестирования посредством бактериальной биолюминесценции оказывают влияние множество факторов. Учет этих факторов позволит повысить перспективность использования тест-системы на основе фото-бактерий в аналитических целях.

РОЗРОБКА СИСТЕМИ КАЛУСОГЕНЕЗУ ДЛЯ ГЕНЕТИЧНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ В ЦІЛЯХ ВИРОБНИЦТВА ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ

*АБРАЙМОВА О. Є., САТАРОВА Т. М., ЧЕРНОУСОВА Н. М.,
ПИСЬМЕНЕЦЬКА І. Ю., КОЛИХАЛОВА С. Ю.*

*Інститут зернового господарства НААН України;
Дніпропетровська державна медична академія, СМСЧ-6, Україна;
e-mail: abraitmovaolga@gmail.com*

В Україні у 2007 році вступив в дію Закон про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів. У теперішній час у світі інтенсивно розвивається напрям генетичної інженерії, пов'язаний з виробництвом вакцин, антитіл, антибіотиків, гормонів, рекомбінантних протеїнів та інших фармацевтичних продуктів у трансгенних рослинах, зокрема кукурудзи, як однієї з найпоширеніших сільськогосподарських культур. У напряму використання кукурудзи для виробництва фармацевтичних рекомбінантних протеїнів одержано перші обнадійливі результати. Так, доведено експресію гена *F* вірусу ньюкастльської хвороби курчат у трансгенних рослинах кукурудзи. (Guerrero-Andrade et al., 2006). Проведено синтез та накопичення в глобулах зеїна антитіла 2G12 (Rademacher et al., 2008). Ці та інші перспективні напрями використання генетично модифікованої кукурудзи потребують розробки системи калусогенезу та регенерації в культурі калусної тканини для перспективних комерційних ліній і гібридів, які відносяться до зародкових плазм, що використовуються у гетерозисній селекції в Україні. У ході розробки системи калусогенезу нами досліджено вплив різних концентрацій дикамби та 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д) на індукцію калусогенезу в культурі незрілих зародків ліній кукурудзи. Встановлено, що для одержання морфогенних калусів повне або часткове заміщення 2,4-Д у середовищі індукції на дикамбу є суттєвим фактором впливу, ступінь ефективності якого визначається генотипом. Лінії з високим рівнем морфогенного калусогенезу та чутливі до дії ауксинового навантаження щодо формування крихкої калусної тканини типу II належать до зародкових плазм Iodent, Lancaster, PLS61 та Chi31. У подальшій роботі для стимуляції утворення калусів типу II у

високо- і середньочутливих до калусогенезу ліній рекомендується використовувати середовища, збагачені 0,5 мг/л 2,4-Д + 1 мг/л дикамби. Також для збільшення виходу калусної тканини у розширеного кола генотипів та поліпшення її здатності до підтримання показано ефективність внесення замість гідролізату казеїну розробленої нами суміші амінокислот, кількісно і якісно оптимізованої відповідно до вмісту амінокислот у зеїнах, запасних протеїнах зерна кукурудзи.

ВИВЧЕННЯ ФАГІВ ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ ПРИРОДНИХ ЕКОСИСТЕМ АНТАРКТИДИ ДЛЯ ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ

АНДРІЙЧУК О. М., МАСЬ О. В.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: aom@univ.kiev.ua

Негативний вплив діяльності людини на розвиток живої природи та здоров'я людей викликає занепокоєння. Людство не завжди приділяє достатньо уваги збереженню навколишнього середовища. У тому числі недостатньо піклується про нешкідливість хімічних препаратів, які застосовуються для захисту від патогенних бактерій. Сьогодні на перший план вийшли задачі розробки біологічних, альтернативних хімічним, біотехнологій. У зв'язку з цим, дослідження фагів (вірусів бактерій) представляють практичні перспективи та науковий інтерес. Фаги, як агенти, що спричиняють лізис бактерій, в тому числі патогенних, дозволяють підійти до вирішення задачі боротьби з бактеріальними хворобами в медицині, ветеринарії, рослинництві. Важливим завданням є обговорення підходів і критеріїв відбору фагів для використання на практиці. Новим підходом може бути використання фагів абсолютно непритаманних для наших географічних широт. Такі фаги було виділено в нашій лабораторії із зразків, відібраних на території Української антарктичної станції. Їхні властивості багато в чому є унікальними. Використання цих фагів відкриває нові перспективи у практичному застосуванні їх для захисту рослин і одержання екологічно чистої сільськогосподарської продукції.

Метою досліджень було вивчення біологічних властивостей та порівняльна характеристика протеїнового складу популяцій фагів, що було виділено на штаммах *E. carotovora* 216, *X. axonopodis* pv. *beticola* 7325 зразків Антарктиди.

За допомогою електронної мікроскопії було виявлено:

- фаги з ікосаедричною головкою та коротким хвостовим відростком, які належать до родини: *Podoviridae*, C1 морфотипу, порядку *Caudovirales* (216/суміш ґрунт);
- фаги з ікосаедричною головкою та довгим нескоротливим хвостовим відростком, які належать до родини: *Siphoviridae*, B1 морфотипу, порядку *Caudovirales* (7325/3 мох, 7325/4 мох, 7325/8 ґрунт, 7325/9 ґрунт).

Визначення протеїнового складу віріонів методом електрофорезу в системі Леммлі дозволяло встановити специфічні особливості серед фагів. Для всіх фагів була характерна значна подібність профілів виявлених поліпептидів. Однак для кожного із аналізованих фагів він мав індивідуальні особливості. Очевидно, вплив

на фаги мали їхні первинні пасажі на певних бактеріях — хазяях. Фаги утворювали дві умовні підгрупи відповідно до штаму, на якому їх було виділено. Відмінності спостерігались, в основному, у складі мінорних поліпептидів. Серед фагів групи 7325 найсуттєвіше відрізнявся фаг 7325 - №9 із ґрунту, в якому виявляли додатковий поліпептид. Відсутність таких протеїнів спостерігали у фагу 216/суміш. Він мав значно менше поліпептидів, ніж у попередніх ізолятах. Наявність у кожного з вивчених фагів незначних відмінностей, на нашу думку, можна пояснити мозаїчною теорією еволюції ДНК-фагів.

Внаслідок проведеної роботи встановлено перспективність досліджень, спрямованих на розробку біологічних засобів захисту рослин на основі використання фагів. Одержані фаги, активні по відношенню до вихідних бактерій, можуть бути основою для застосування їх у біотехнології.

АНТИОКИСЛЮВАЛЬНИЙ ПОТЕНЦІАЛ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ ГРИБІВ РОДУ *Coriolus quel (Trametes fr.)* — ПЕРСПЕКТИВНОГО БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБ'ЄКТУ

АНТОНЕНКО Л. О., КЛЕЧАК І. Р., КУЧМА В. М.

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут»;
e-mail: prombt@ukr.net

Ксилотрофні гриби білої гнилі, до яких належать вищі базидіальні гриби роду *Coriolus*, можуть бути джерелом речовин-біоантиокисників, оскільки ці гриби мають підвищений антиоксидантний статус внаслідок біохімічної адаптації до окислювального стресу у процесі деструкції лігніну. За даними літератури, антиокислювальну активність (АОА) виявляють низькомолекулярні речовини фенольної природи. Ці речовини можуть міститись як у грибному міцелії, так і в культуральній рідині. Таким чином, і міцелій, і культуральна рідина можуть проявляти АОА. Стосовно досліджуваних нами грибів роду *Coriolus* у фаховій літературі зустрічається фрагментарна інформація щодо дослідження АОА спиртових екстрактів міцелію, зокрема базидіального гриба *C. hirsutus*, а культуральна рідина майже не досліджувалась.

Об'єктами наших досліджень були 4 штами базидіальних грибів *Coriolus versicolor* 353, *C. zonatus* 5302, *C. hirsutus* 5137, *C. villosus* 1009 з Національної колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України.

Метою роботи було вивчення впливу джерел вуглецевого і азотного живлення у складі поживного середовища на антиокислювальну активність культуральної рідини грибів роду *Coriolus*.

Встановлено, що джерела вуглецю і азоту впливають на проявлення АОА культуральною рідиною штамів. Так, наприклад, високі показники АОА в діапазоні $3,0 \times 10^{-4}$ — $7,8 \times 10^{-4}$ дм³/см³×хв відмічено для штаму *C. villosus* 1009 за використання глюкози, сахарози і крохмалю; для штаму *C. hirsutus* 5137 — в діапазоні $1,22 \times 10^{-4}$ — $2,11 \times 10^{-4}$ дм³/см³×хв спостерігалися у разі використання лактози, сахарози, галактози і фруктози.

Що стосується джерел азотного живлення, то найбільша АОА в культуральній рідині спостерігалася у разі використання NH_4NO_3 для штаму 1009 ($5,46 \times 10^{-3} \text{ дм}^3/\text{см}^3 \times \text{хв}$) і штаму 5302 ($1,4 \times 10^{-3} \text{ дм}^3/\text{см}^3 \times \text{хв}$).

У подальших дослідженнях планується оптимізувати склад середовища для глибинного культивування з метою підвищення величини АОА культуральної рідини з використанням відібраних для штамів базидіоміцетів джерел вуглецю та азоту.

БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *Rhododendron* L. ЯК ДЖЕРЕЛА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

АНТОНЮК Т. М., ОКАНЕНКО О. А., ТАРАН Н. Ю.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: antonyk_t@bigmir.net

Дослідження природних метаболітів, пошук нових природних джерел, препаративне виділення рослинних метаболітів для фармакологічних випробовувань є актуальною задачею прикладної біохімії. Об'єктами дослідження були представники роду *Rhododendron* L.: вічнозелені (*R. fortunei*, *R. ponticum*, *R. amesiae*), напіввічнозелені (*R. obtusum*, *R. micranthum*, *R. ledebourii*) та листопадні (*R. occidentale*, *R. arborescens*, *R. reticulatum*). Ще в середині минулого століття було виявлено, що екстракти з листків рододендрона мають цінні фармакологічні властивості, однак хімічний склад детально не досліджувався. Нова хвиля досліджень вторинних метаболітів, як біологічно активних речовин, що забезпечують необхідні терапевтичні ефекти, знов привернула увагу до представників цього роду рослин. Було продемонстровано, що представники роду *Rhododendron* L. характеризуються високою здатністю до синтезу вторинних сполук, зокрема речовин фенольної природи (Комисаренко и др., 1973; Дурмашидзе и др., 1981; Костина и др., 2005; Кемертелидзе и др., 2007). Відмічено накопичення в них кверцетину, мирицетину, оксibenзойної, оксикоричної та хлорогенової кислот. У тканинах рододендронів знайдені рідкісні, специфічні продукти вторинного метаболізму: дафнетоксин, таксифолін, родоніні, маттеуцинол, азалеїн. (Костина, 2009). Нашими дослідженнями виявлено специфічні відмінності у вічнозелених та напіввічнозелених видів, які виявлялися на рівні основних компонентів фенольної природи. Так, в листках вічнозеленого виду вони представлені в основному похідними кверцетину (кверцетин-3-рампіранозид, кверцетин-к-О-галактопіранозид), а також оксикоричною та неохлорогеновою кислотами.

Окрім того, при дослідженні ліпідної фракції фотосинтетичних тканин представників роду рододендрон за допомогою методу ТШХ в різних системах розчинників ідентифіковано стероїдні глікозиди, якісний вміст яких підтверджено за допомогою специфічних реагентів.

Останніми роками зростає зацікавленість до стероїдних глікозидів, як речовин із широким спектром біологічної дії на живі організми. В наш час більше 50% усіх стероїдних ліків (головним чином аналогів кортикостероїдів, чоловічих та жіночих

статевих гормонів, а також протизаплідних засобів) одержують з рослинних стероїдів. Виявлена висока біологічна активність та фармакологічна цінність стероїдних глікозидів рослинного походження спонукала нас дослідити видову специфіку накопичення їх вегетативними органами представників роду *Rhododendron* L. та динаміку вмісту протягом вегетативного періоду.

Кількісний аналіз вмісту стероїдних глікозидів у листках рододендронів протягом вегетації виявив накопичення їх у середній кількості від 19,7 до 14,3 мкмоль/г сухої речовини. Максимально накопичення стероїдних глікозидів, залежно від виду, припадає на травень—червень. У видовому аспекті вміст стероїдних глікозидів різниться у представників роду (в порядку зменшення): *R. ledebourii*, *R. amesiae*, *R. micranthum*, листопадні види характеризувались відносно низьким вмістом стероїдних глікозидів. Мінімальна кількість стероїдних глікозидів в усіх досліджених видів спостерігалася в період дозрівання плодів — жовтень—листопад. Результати досліджень показали, що рододендрони, інтродуковані на території України можуть використовуватись як перспективне джерело фенольних сполук та стероїдних глікозидів і дозволили встановити видову та часову специфіку накопичення їх у вегетативній масі рослин.

АПОПТОЗ ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК КОРДОВОЙ КРОВИ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ

БАБИЙЧУК Л. А., ЗУБОВА О. Л., ЗУБОВ П. М., РЯЗАНЦЕВ В. В.

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;
e-mail: ucblood@mail.ru*

В настоящее время кордовая кровь (КК) признана полноценным источником гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Это привело к необходимости создания банков КК, в которых образцы хранятся в жидком азоте (-196°C) без потери их биологических свойств. В связи с необходимостью создания банков, разработка эффективных методов замораживания является актуальной задачей. Эффективность метода определяется использованием адекватных методов оценки качества размороженного материала.

Поскольку следствием процедур замораживания—отогрева может быть гибель клеток в результате реализации каскадного механизма апоптоза, целью данной работы явилось изучение стадий апоптоза различных популяций ядрособержащих клеток КК после криоконсервирования по разработанному нами методу.

Исследования ядрособержащих клеток (CD45^{+}) КК, в том числе и гемопоэтических (CD34^{+}) до и после криоконсервирования были проведены методом точной цитофлуориметрии по международному ISHAGE протоколу. Для оценки стадий апоптоза клеток был использован цитофлуориметрический метод, основанный на комбинации аннексина V и 7AAD—красителя, который легко проникает в клетки на поздних стадиях апоптоза или некроза, но не попадает в клетки на начальном этапе апоптоза.

Показано, что криоконсервирование вызывает увеличение количества аннексин V^{+} -клеток до 18%. Такое число меченых аннексином клеток в первую очередь

обумовлено значительним процентом меченых гранулоцитов (41,5%), в то время как лишь у незначительной части лимфоцитов (до 1,7%) и моноцитов (до 8,8%) происходит нарушение липидной асимметрии.

Исследование стадий апоптоза популяций ядродержащих (CD45⁺) клеток показало, что криоконсервирование приводит к увеличению количества клеток, находящихся как на начальном этапе апоптоза, так и на поздней стадии апоптоза/некроза, однако каждая популяция CD45⁺-клеток имеет свои особенности в характере и степени дезорганизации структуры клеток.

ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ І СТІЙКІСТЬ ДО ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ДРІЖДЖІВ *Saccharomyces cerevisiae* У ПРИСУТНОСТІ ПРЕПАРАТІВ РОДІОЛИ РОЖЕВОЇ

БАЙЛЯК М. М., ЛУЩАК В. І.

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

Препарати, одержані з кореневища родіоли рожевої (*Rhodiola rosea* L.), збільшують опірність організму до дії багатьох несприятливих чинників, виявляючи, перш за все, антистресовий ефект. Водночас в експериментах з *Drosophila melanogaster* і *Caenorabdilis elegans* було показано, що додавання до харчового раціону у визначених дозах екстрактів із родіоли рожевої може збільшувати тривалість життя цих модельних організмів.

У роботі досліджували здатність препаратів родіоли рожевої модифікувати тривалість життя і антиоксидантний захист дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Клітини *S. cerevisiae* штаму YPH250 вирощували на середовищі з глюкозою, в яке додавали 2% (за об'ємом) водного препарату з кореневища *R. rosea* протягом 19 діб. Для оцінки антистресової дії *R. rosea* порівнювали стійкість до пероксиду водню клітин, вирощених без і з препаратами родіоли рожевої до середини експоненційної фази росту.

Клітини *S. cerevisiae*, вирощені у присутності препаратів *R. rosea*, виявилися чутливішими до дії H₂O₂, порівняно з клітинами контрольних культур (без препаратів *R. rosea*). Показано, що підвищена чутливість клітин до пероксиду водню за цих умов може бути почасти зумовлена нижчою вихідною активністю антиоксидантних ферментів — каталази і супероксиддисмутази — або вищим ступенем інактивації їх під дією H₂O₂.

Додавання у живильне середовище препаратів *R. rosea* збільшувало тривалість життя і репродуктивну здатність клітин *S. cerevisiae* на пізніх етапах культивування. У клітинах, які росли з препаратами родіоли рожевої, активність каталази не відрізнялася, а активність супероксиддисмутази була нижчою, ніж у клітин із контрольних культур, протягом всього періоду культивування. Чіткого зв'язку між цим ефектом і впливом родіоли рожевої на тривалість життя дріжджів у цьому випадку не простежувалось.

Одержані результати свідчать про те, що *R. rosea* може діяти як прооксидант у клітинах *S. cerevisiae*, збільшуючи чутливість клітин до оксидативного стресу, але

цей спосіб дії не є достатнім для пояснення позитивного впливу *R. rosea* на виживання дріжджів у стаціонарній фазі. Тому механізми геропротекторного впливу родіоли рожевої потребують подальшого вивчення.

SELECTION OF ISOLATED YEAST *Saccharomyces cerevisiae* FROM DIFFERENT SORTS OF GRAPE MUST AFTER FERMENTATION AND PERSPECTIVE FOR BIOTECHNOLOGY USE

BAYRAKTAR V. N.

*Mechnikov Odessa National University, Ukraine;
e-mail: vogadro2007@rambler.ru*

Biotechnology of wine yeast accompanied with different complex biochemical processes of dextrose transformation into ethanol. This process is launched by yeast present on the skin of ripe grape. Enzymes which contain grape must also participate in the process of degradation of dextrose into ethanol and carbonic gas during anaerobic cultivation of yeast.

Application of pure yeast cultures steady to external conditions such as: ethanol, low parameters of pH, sulfites, give possibilities for must fermentation even in extremal conditions for yeast.

The aim of our research is isolation of grape yeast cultures from different varieties their cultivation on specific selective nutritient medias, definition of specific belonging, physiologic and biochemical properties. Each isolated yeast strain was deposited at NRRL Culture Collection, US.

We chose and selected yeast cultures which are acceptable for industrial biotechnological processes of receiving yeast biomass, yeast cultures which don't have industrial properties were recommended to be used in scientific research projects as type culture and test culture.

During our research we ascertained the yeast cultures with practical properties which were deposited at NRRL: Wine varieties of grape: Aligote USRCB Y-3362; Cabernet Y-3362; Merlo Y-3364; Riesling rheinian Y-3365; Rkatsiteli Y-3366; Sauvignon Y-3367; Chardonnay Y-3368. Table varieties of grape: Kesha Y-3423; Kishmish white Y-3424; Karaburnu Y-3393; Lidia Y-3399; Odessa's souvenir Y-3375; Dnestrovskiy pink Y-3396; Original Y3406; Muscat white Y-3372; Isabella Y-3429; Crimean black Y-3373; Moldova Y-3391; Doina Y-3398; The queen of vineyards Y-3425; Arcadia Y-3402; Bako Y-3397; Suruchenskiy white Y3400.

Cross-bred varieties of grape: Black Novak Y-3374; One thousand first hybride Y-3403; Twenty

Eighth hybride Y-3405; Saibel black Y-3426; Saibel white Y-3427; Curly white (kudrik) Y-3395.

ВЛИЯНИЕ ЛАКТОБАКТЕРИЙ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ ГРИБОВ

БАСЮЛ Е. В., ЯМБОРКО А. В.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;
e-mail: sparklesea@mail.ru

Целью работы было изучение биохимического состава вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) и исследование влияния на него лактобактерий в процессе ферментации. Исследованы два штамма лактобактерий: *Lactobacillus plantarum* ОНУ-Р01, *L. plantarum* ОНУ-Р02 в качестве стартерных культур для заквашивания вешенки обыкновенной. В работе использованы два опытных (с заквасочными культурами) и контрольный (самоквасные грибы) варианты эксперимента. Биохимическое исследование квашеных грибов проводили сразу после внесения стартерной культуры, а также через 2 недели экспозиции. Изучены такие показатели, как процент содержания протеина, жира, суммарных углеводов, маннита, гликогена, качественный и количественный состав аминокислот, витаминов, жирных кислот, сахаров (в абсолютно сухом веществе) в вешенке обыкновенной до и после ферментации. Установлено, что процент содержания протеина в неферментированных грибах составлял 18,14; после ферментации в контрольном варианте — 13,0%, а в опытных вариантах с культурами *L. plantarum* ОНУ-Р01 и *L. plantarum* ОНУ-Р02 — 14,5 и 16,3% соответственно. Содержание маннита и гликогена не изменяется после ферментации. Количество суммарных углеводов после экспозиции снижается в контрольном варианте на 39%, в опытном с *L. plantarum* ОНУ-Р01 — на 29,4%, а с *L. plantarum* ОНУ-Р02 — на 32,9%. Показатели жира в грибах после ферментации снижаются на 2,7% в контрольном варианте, на 1,12% с *L. plantarum* ОНУ-Р01 и на 0,7% с культурой *L. plantarum* ОНУ-Р02. Суммарное количество аминокислот в грибах до начала ферментации составляло 17,4% мг/100 мг абсолютно сухого вещества. После экспозиции показатели общего содержания аминокислот снижаются в контрольном варианте на 5,8%, а в опытном с *L. plantarum* ОНУ-Р01 — на 4,7%. При этом, в грибах, заквашенных *L. plantarum* ОНУ-Р02, разница в количественном составе аминокислот до и после ферментации была на уровне 2,7 %. Незаменимые аминокислоты составляют 6,98% до ферментации, 5,23% — в контрольном варианте, 5,88% — с *L. plantarum* ОНУ-Р01, 6,66% — с внесением культуры *L. plantarum* ОНУ-Р02. Заменимые аминокислоты составляли 10,44% мг/100 мг до ферментации грибов, а после ферментации их количество снижается в контрольном варианте на 4,1%, с культурой *L. plantarum* ОНУ-Р01 — на 3,65, а с *L. plantarum* ОНУ-Р02 — на 2,4%. Витаминный состав ферментированных грибов остается без существенных изменений, однако в образце грибов с *L. plantarum* ОНУ-Р01 повышается содержание ниацина и пиридоксина на 1 мг/100 г, биотина — на 0,5 мг/г. Количество аскорбиновой кислоты увеличивается на 0,4 мг/100 г в варианте с *L. plantarum* ОНУ-Р02, а биотина — на 0,3 мг/г с культурой *L. plantarum* ОНУ-Р02 и в контрольном варианте. В вешенке обыкновенной обнаружены насыщенные жирные кислоты: пальмитиновая (9,9%) и стеариновая (1,5%), мононенасыщенная — олеиновая (13,7%) и полиненасыщенные жирные кислоты: линолевая (57,6%), линоленовая (0,92%), количество которых существенно не изменяется. Состав сахаров вешенки

обыкновенной представлен глюкозой, ксилозой, мальтозой, маннозой, раффинозой, сахарозой, фруктозой. В ферментированных лактобактериями вешенках снижается количество углеводов, которые расходуются на брожение и накопление органических веществ, что является математически достоверным. Таким образом, заквасочные штаммы лактобацилл не снижают питательную ценность квашеных грибов.

ВПЛИВ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ЕНЗИМІВ У ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ТКАНИНАХ

БАЦМАНОВА Л. М., ТАРАН Н. Ю., МУСІЄНКО М. М.

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

Пероксид водню (H_2O_2) з одного боку, є універсальним окислювачем, і його накопичення призводить до розвитку окислювального стресу, який згубно діє на рослинні організми, а, з іншого, — це сигнальна молекула, яка індукує захисні реакції, що приводять до формування неспецифічної стійкості рослин. Ефект його дії визначається залежно від концентрації та часу впливу. Високоєфективний вплив низьких концентрацій хімічних речовин можна пояснити регуляторною дією їх і розглядати як сигнали для переключення програми фізіологічних процесів в організмі. За дії цих сигналів відбувається активація певних генів. Як відомо, стійкість рослин визначається ефективністю систем антиоксидантного захисту, тому дослідження їхнього функціонування та регуляції є актуальним питанням сучасної біохімії рослин.

Метою наших досліджень було з'ясування особливостей зміни активності супероксиддисмутази (СОД) та каталази за дії фізіологічних концентрацій пероксиду водню. Об'єктом досліджень були семидобові проростки озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту „Поліська 90”. Проростки пшениці одержували у водній культурі (на дистильованій воді) при освітленні 5000 лк на рівні рослин, температурі +24 °С. Рослини піддавали впливу H_2O_2 (500 мкМ) шляхом обприскування надземної частини і витримували дослідні рослини у скляній камері протягом 1, 2, 3, 4, 5, 24, 48, 72 годин. Контрольні рослини обприскували дистильованою водою.

Як свідчать результати наших досліджень активність каталази за дії H_2O_2 підвищується. Так, на першу годину після дії H_2O_2 зростає на 13% порівняно з контрольними варіантами, на другу — вже на 37% і майже на такому ж рівні підтримується до 24-ї години. На 24-у та 48-у години вона зрівнялася з контрольними варіантами, а на 72-у годину знову зростає (24%).

Активність СОД на перших фазах стресу (першу та другу години експозиції) знижується порівняно з контрольними варіантами, на третю годину вона є на рівні контрольних варіантів, а на четверту годину підвищується на 38%. Максимальну стимуляцію активності СОД (майже у 2,5 раза) спостерігали на 24-у годину, проте вже на 48-у, 72-у години експозиції її активність знижується до рівня контролю.

Отже, обробка проростків екзогенним H_2O_2 у концентрації 500 мкМ сприяє індукції захисних механізмів, зокрема за рахунок підвищення активності антиоксидантних ензимів.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКА БПС-44 ДЛЯ КОМПЕНСАЦИИ ОТРИЦАТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ РАУНДАПА НА ПЕЧЕНЬ КАРПА

БИБЧУК Е. В., БАРБУХО Е. В., ЖИДЕНКО А. А.

*Черниговский национальный педагогический университет
им. Т. Г. Шевченко, Украина;
e-mail: chgpru@chgpru.cn.ua; zaa2006@ukr.net*

Накопление гербицидов в печени рыб в результате их бесконтрольного применения приводит к снижению функций этой железы. Цель исследования: установить возможность использования пробиотического препарата БПС-44 с целью компенсации негативных последствий влияния раундапа на организм карпа. Для проведения модельного эксперимента использовали сеголеток и двухлеток карпа чешуйчатого (*Cyprinus carpio* L.) в трех вариантах: 1) контроль, 2) действие 2 ПДК (предельно допустимые концентрации) гербицида раундап (0,04 мг/дм³), 3) при совместном влиянии пробиотика и гербицида (в воду за сутки до внесения раундапа добавляли суспензию препарата БПС-44, 125 млн. клеток/л). Этот препарат был создан на основе штамма бактерий *Bacillus subtilis* 44-р. в Институте сельскохозяйственной микробиологии НААНУ (г. Чернигов). Первоначально была проверена чувствительность данного штамма к действию раундапа методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков. Было установлено, что раундап в концентрации 1 ПДК, 2 ПДК не угнетает жизнедеятельность культуры *B. subtilis* и только при 4 ПДК наблюдается тенденция к уменьшению на 19% количества жизнеспособных клеток. Под действием раундапа происходит уменьшение общих и нерастворимых протеинов в основных органах сеголеток и двухлеток карпа, поэтому были изучены изменения протеиновых фракций в печени сеголеток карпа. Под действием раундапа наблюдается резкое снижение содержания альбуминов (в 1,8 раза) и соответственно возрастает уровень глобулинов. Коэффициент А/Г равен 0,35, что свидетельствует о хроническом диффузном поражении печени. Кроме того, в 9,5 раза возрастает фракция α_1 -глобулинов, включающая фракцию протеинов острой фазы: α_1 -антитрипсина, α_1 -кислого гликопротеина и снижается в 2,6 раза фракция β -глобулинов (трансферрин, гемопексин), увеличиваются в 2,5 раза γ -глобулины, которые обеспечивают иммунную защиту организма рыб IgG и IgM. Использование пробиотика приближает показатели исследуемых фракций (альбумины, β -глобулины) к соответствующим значениям контрольных рыб: коэффициент А/Г становится равным 1, что свидетельствует о положительном влиянии пробиотика. Содержание γ -глобулинов увеличивается только на 19,2%. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о компенсаторном действии пробиотического препарата БПС-44, которое приводит к выравниванию количественных показателей протеиновых фракций в крови (кроме α_2 -глобулинов). В печени такая компенсация не наблюдается.

ENGULFMENT OF NOVEL MAGNETO RESPONSIBLE POLYMER-MINERAL NANOPARTICLES WITH MACROPHAGES

¹BOIKO N., ¹KLUCHIVSKA O., ²SHLYAKHTINA Ye., ⁴SHAGOTOVA T.,
⁴HORAK D., ⁴SPONAROVA D., ³MITINA N., ³SKOROKHODA T.,
^{1,2}STOIK A., ³ZAICHENKO A.

¹*Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;*

²*Ivan Franko Lviv National University, Ukraine;*

³*Lviv National Polytechnic University, Ukraine;*

⁴*Institute of Macromolecular Chemistry AS of Czech Republic, Prague;*

e-mail: nboiko@aport.ru

Development and biomedical application of functionalized magnetic nanoparticles are of great significance. Novel surface-active functional oligomers of N-vinyl pyrrolidone with terminal carboxyl and ditertiary peroxide groups of controlled molecular weight and narrow size distribution were synthesized. Stable water-based systems consisting of superparamagnetic maghemite nanoparticles sized in the range of 25-50 nm were obtained via homogeneous nucleation technique with using specific surfactants as templates. Irreversible adsorption of oligoperoxide surfactant on the nanoparticle surface at nucleation, provides not only controlling their size distribution but also the formation of required functional reactive shell. The analysis of the results of FT-IR spectroscopy, changes in values of zeta-potential and hydrodynamic radius of the nanoparticles testify to purposeful functionalization of maghemite nanoparticle surface. The availability of radical forming fragments in the shell causes grafting polymeric spacers of tailored length and functionality to the surface of nanoparticles via mechanism "grafting from". This provides a formation of stable water suspensions consisting of the nanoparticles and a possibility of their engulfment by macrophages for their further separation of these cells. For better uptake of the nanoparticles by macrophages they were opsonized by proteins of fetal bovine blood serum for 12 h at 37 °C. For performing phagocytosis, 2.3% and 4.6% of opsonized and non-opsonized maghemite nanoparticles were inserted into the medium of incubation of mice macrophages of J774.2 line. These cells were incubated in the presence of maghemite nanoparticles for 24 h. After such incubation, the cells were separated by applying Dynal® MPC™-1 magnet. It was shown that mice macrophages of J774.2 line efficiently engulf both opsonized and non-opsonized maghemite nanoparticles. After cell separation by the magnet, only 3-5% of the cells were left not phagocytosized.

Thus, the developed maghemite nanoparticles with functional polymeric shell can be applied for separation of different types of mammalian cells, particularly, the macrophages. They can be used in medical diagnostics and for cell separation in biological experiments.

This study was partly supported by STCU #4953 grant and bilateral grant of NAS of Ukraine and Academy of Sciences of Czech Republic (2008-2010).

БАКТЕРИИ ЦИКЛА СЕРЫ КАК МОДИФИКАТОРЫ ПОВЕРХНОСТИ

¹БОРЕЦКАЯ М. А., ²ЛАЗАРЕВ В. Г., ¹КОЗЛОВА И. А.

¹Институт микробиологии и вирусологии
им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;

²Национальный авиационный университет, Киев, Украина;
e-mail: mashapro@ukr.net

Современная биотехнология широко использует свойства бактериальных клеток формировать биопленки на поверхности различных материалов. Биопленки представляют собой совокупность клеток и их экзополимеров на твердых поверхностях в водной среде, которая обеспечивает транспорт питательных веществ к клеткам. Ацидофобные тионовые бактерии цикла серы *Thiobacillus thioparus*, формируя биопленку на поверхности металла способны осуществлять процесс биоминерализации с образованием элементной серы.

В последнее время сплавы с высокой удельной прочностью находят применение в авиации, однако они часто имеют низкие триботехнические характеристики, что затрудняет их широкое применение. Проблема состоит в создании на поверхности этих материалов структур с высокими трибологическими свойствами. Одним из вариантов решения этой проблемы может быть использование процесса минералообразования в биопленках, сформированных бактериями цикла серы, где ускоряется накопление элементной серы, изменяется наноструктура поверхности.

Нашей задачей было показать влияние бактерий и продуктов их жизнедеятельности на изменение структуры поверхности материалов.

Объектами исследований были ацидофобные тионовые бактерии цикла серы *T. thioparus* 4М и их гетеротрофный спутник *Stenotrophomonas maltophilia* 13М. В качестве испытуемых материалов были выбраны два типа детонационных покрытий (пр-во ЗАО «Амулет», Киев): № 1-самофлюсующийся состав (Ni, Cr, Si, B) и № 2-оксидная керамика (Al₂O₃, TiO₂, Cr₂O₃). На поверхность покрытий была нанесена лазерная гравировка для улучшения микрорельефа поверхности. В среду Бейеринка были внесены культуры бактерий *T. thioparus* 4М и *S. maltophilia* 13М (титр 10³ и 10⁵ кл/мл соответственно) и образцы покрытий. Длительность культивирования составляла 2, 3, 5, 15 и 25 суток при 28 °С. При исследовании образцов применяли оптическую, растровую электронную микроскопию и микрорентгеноспектральный анализ (рентгеновский спектрометр с дисперсией по энергии). Перед исследованием химического состава, клетки удаляли с поверхности, образцы промывали в ацетоне.

В ходе эксперимента на вторые и третьи сутки в присутствии *T. thioparus* 4М наблюдали кристаллические структуры сферической формы на поверхности образца № 1. Химический анализ показал значительные концентрации железа и фосфора. В присутствии *S. maltophilia* 13М оба материала были покрыты гелеобразными, легко снимающимися пленками. В результате проведенных исследований, было обнаружено, что клетки *T. thioparus* 4М, гетеротрофный спутник и их ассоциация способны образовывать на поверхности покрытий биопленки с дальнейшим изменением структуры материала, что было подтверждено химическим анализом (на

поверхности покрытия отмечается около 2% серы, в контрольных образцах серы не обнаружено).

ПОШУК ПРОТИПУХЛИННИХ СПОЛУК В РЯДУ ПОХІДНИХ 5-МЕТИЛУРАЦИЛУ

*ВЕЛЬЧИНСЬКА О. В., ШАРИКІНА Н. І., ЯГУПОВА А. С.,
ВІЛЬЧИНСЬКА В. В.*

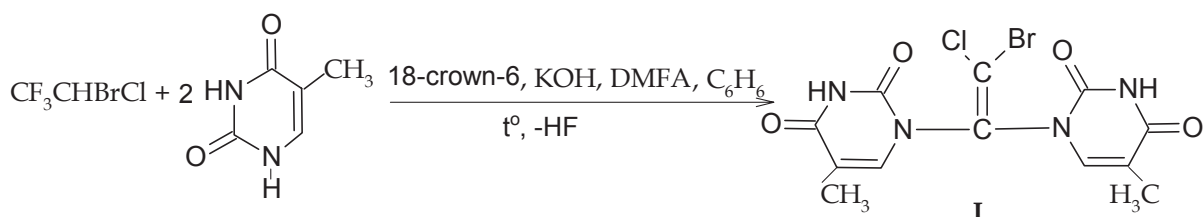
*Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;
e-mail: Elena_www@ukr.net*

На сьогодні цілком закономірними є пошуки шляхів елімінації пухлинних клітин із множинною лікарською стійкістю за допомогою різних механізмів.

Розвивається сучасна концепція імунотерапії пухлин. Важливою є розробка сучасних лікарських засобів, що сприяють захисту організму людини від шкідливого впливу факторів навколишнього середовища.

Одним з перспективних шляхів пошуку засобів лікування пухлинної хвороби є створення нових антиметаболітів піримідинового обміну, здатних впливати на структуру та функції нуклеїнових кислот. Наявність цих речовин в організмі людини і обумовила актуальність дослідження їхньої ролі у фізіології макроорганізму. Вивчається також використання малих активних молекул для фармакопейних форм медичних біологічних препаратів з метою інгібування пухлинного росту.

Молекули 5(6)-заміщених урацилів та їхніх похідних, здатні виконувати роль синтонів в органічному синтезі, тому їх активно використовують для створення оригінальних біомолекул із потенційною протипухлинною активністю. За новим препаративним методом реакцією 5-метилурацилу з фторотаном синтезовано новий гетероциклічний біс-аддукт I (схема).



Встановлено, що біс-похідне 5-метилурацилу I належить до малотоксичних: ЛД₅₀ її становить 515 мг/кг. На пухлині головного мозку людини (операційний та біопсійний матеріал) в підкапсульному тесті за методом Богдана, на підставі результатів експериментально-морфологічних досліджень в умовах субкапсулярного тестування встановлено виражений протипухлинний ефект на пухлинну клітину біс-похідного 5-метилурацилу I з відсотком гальмування 29,8% (критерій значущості $\geq 25,0\%$ гальмування пухлинного росту).

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

ВИНОГРАДОВА К. Г., ДИЛЬ О. Д.

*ТОВ «Міжнародна об'єднана лабораторна група», Київ, Україна;
e-mail: ijl@ukrpack.net*

У медичній практиці мають широке застосування ненаркотичні анальгетики. Ними широко користуються при болях у голові, невралгії, ревматичних болях, запальних процесах тощо. До таких анальгетиків належать препарати з діючою речовиною анальгін та комбіновані лікарські засоби, до складу яких можуть входити також парацетамол, кофеїн, кодеїн, фенобарбітал. Поєднання цих компонентів у лікарських препаратах тісно пов'язано із спрямованістю фармакологічної дії кожного з них. Будь-які лікарські засоби, а особливо багатокомпонентні, потребують використання швидких та точних методів контролю їхньої якості. У комбінованих препаратах, до складу яких входить анальгін, досить важко створити швидкий та ефективний метод контролю інших компонентів. Найбільшу складність являє собою визначення наявності та вмісту парацетамолу у присутності в лікарському засобі анальгіну.

Вирішити цю проблему можна було використавши метод зворотно-фазової високоефективної рідинної хроматографії. Дослідження проведені на хроматографічній системі фірми Perkin Elmer типу Serkos 200LC (США). Для відділення піку виходу парацетамолу від піку анальгіну нами було проведено дослідження із застосуванням різних сорбентів, хроматографічних колонок, різного складу рухомої фази, концентрації солей, рН рухомої фази та наявності у рухомій фазі іон-парних компонентів. На першому етапі було необхідно підібрати розчинник, змінюючи співвідношення органічної та неорганічної частин рухомої фази та заміни метанолу на ацетонітрил. Виявилось, що найбільш придатним сорбентом для хроматографування є силікагель оксилсиліл. Застосування цього типу сорбенту дало можливість відділити пік парацетамолу від піку анальгіну, отримавши коефіцієнт розділення 5,2, і розрахувати показники придатності цієї хроматографічної системи. Такими показниками стали: хроматографічна колонка, заповнена сорбентом С8 довжиною 250 мм, діаметром 4,6 мм та розміром частинок 5 мкм; довжина хвилі детектування 245 нм; швидкість рухомої фази 1,0 мл/хв.; рухома фаза: суміш 17,9 г/л Na_2HPO_4 , 7,8 г/л NaH_2PO_4 та 4,6 мл/л 40%-го розчину тетрабутиламонію ацетату у співвідношенні 37,5 : 37,5 : 25.

Таким чином, нами було розроблено умови, які дозволяють якісно і кількісно оцінити вміст парацетамолу в комбінованих лікарських засобах у присутності анальгіну. Метод готовий до внесення в аналітичну документацію після проведення валідаційного процесу у відповідності до Державної фармакопеї України.

**ВИКОРИСТАННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ ЕНЗИМІВ
В АНАЛІТИЧНИХ НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯХ**

ГАЙДА Г. З., СМУТОК О. В., ЗАКАЛЬСЬКИЙ А. Є.,
ЗАКАЛЬСЬКА О. М., СТАСЮК Н. Є., ГОНЧАР М. В.

*Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: gonchar@cellbiol.lviv.ua*

Початок ХХІ століття ознаменувався появою революційних технологій, які поєднують найсучасніші досягнення на стику різних дисциплін. Яскравим прикладом таких новітніх технологій є аналітичні біотехнології, скеровані на розробку нових аналітичних підходів і біотехнологічних продуктів із використанням біологічних принципів розпізнавання аналізованих речовин. За останні роки бурхливо розвиваються нанобіотехнології, які націлені на створення і практичне використання нанорозмірних об'єктів синтетичного та біологічного походження. Серед перспективних напрямів цієї науки можна назвати створення і скерована доставка ліків на біосумісних наночастинках, розділення і очистка біомолекул та клітин, розробка нанобіомеханічних систем, а також конструювання нанобіосенсорів та інших біоаналітичних систем із використанням нанорозмірних біочутливих мембран. Вважається, що іммобілізація біокаталізаторів на поверхні наночастинок не тільки збільшує їх локальну концентрацію і сприяє стабілізації, а й може призводити до появи нових властивостей, не притаманним їхнім мікроаналогам, зокрема, здатності до самозборки, покращення каталітичних параметрів, здатності до прямого переносу електронів. Такі зміни можуть стати основою для створення безмедіаторних біосенсорів третього покоління, простіших і дешевших порівняно із існуючими на сьогодні аналогів I і II поколінь. Крім того, поєднання біоаналітичного елемента із наноносіями дозволяє переносити його в потрібні тканини чи клітини і провести діагностику патологічних змін *in vivo* на ранніх стадіях розвитку хвороби, що особливо важливо при діагностиці раку.

У доповіді представлено результати недавніх досліджень у відділі аналітичної біотехнології з розробки нових біоаналітичних методів (ензиматичних та біосенсорних) з використанням ензимів, виділених із клітин сконструйованих дріжджових надпродуцентів: флавоцитохрому b_2 , (His)₆-тегованих метиламіноксидази та аргінази I печінки людини. Представлено дані по ефективній очистці цільових ензимів, їх кон'югації з мікро- та нанорозмірними частинками з метою використання в аналітичних технологіях.

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА РТУТИ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ЭНЗИМОВ В ЯИЧНИКАХ КРЫС

ГАНУСОВА Г. В.

Харьковский национальный университет
им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: galina.kharkov51@mail.ru

Токсические металлы (свинец, кадмий и ртуть) широко распространены в окружающей среде. Попадая в организм, эти металлы оказывают влияние на тиол-дисульфидный обмен, вызывают образование активных форм кислорода (АФК), мобилизуют систему антиоксидантной защиты организма.

АФК играют важную физиологическую роль в яичниках и образуются внутри фолликула перед овуляцией, в процессе деградации желтого тела, их содержание должно быть сбалансировано антиоксидантной системой. С другой стороны, высокие концентрации АФК могут ингибировать синтез эстрогенов в яичниках, повышают риск развития различных патологий репродуктивной системы. Однако механизмы токсического действия ртути на ткани репродуктивной системы изучены недостаточно.

Целью данной работы явилось изучение влияния хлорида ртути на активность энзимов антиоксидантной защиты в яичниках крыс.

В работе использовали крыс-самок линии Wistar (180–220 г) в фазе *estrus*. Крысам подкожно вводили HgCl_2 в дозе 0,7 мг/100 г массы тела и брали в эксперимент через 2 и 24 ч под легким эфирным наркозом. Содержание ТБК-реагирующих продуктов, а также активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГП), глутатионтрансферазы (ГТ) и глутатионредуктазы (ГР) определяли спектрофотометрически на СФ-46 в постмитохондриальной фракции яичников крыс.

Через 2 и 24 ч после введения HgCl_2 установлено повышение содержания ТБК-реагирующих продуктов в сыворотке (162 и 161%) и в яичниках крыс (134 и 142%), что свидетельствует об активации пероксидного окисления липидов и развитии оксидативного стресса.

При воздействии HgCl_2 обнаружено значительное повышение активности всех изучаемых антиоксидантных энзимов в яичниках крыс: СОД (2 ч, 165%), каталазы (2 и 24 ч, 219 и 193%), а также энзимов, связанных с обменом глутатиона — ГП (2 и 24 ч, 180 и 145%), ГТ (2 и 24 ч, 238 и 162%) и ГР (2 и 24 ч, 163 и 175%). В этих условиях активация энзимов антиоксидантной защиты яичников крыс сопровождается повышением концентрации эстрадиола, который может индуцировать синтез металлотионенинов в тканях и снижать токсичность ртути.

Таким образом, в течение суток после поступления HgCl_2 в организм, активация энзимов антиоксидантной защиты в яичниках крыс носит адаптивный характер и защищает этот орган от оксидативных повреждений.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ОРГАНАХ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ НАГРУЗКИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

ГОНЧАРЕНКО М. С., КОНОВАЛОВА Е. О.,
АНДРЕЙКО Г. П., ГЛАДКАЯ Е. А.

*Харьковский национальный университет
им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: valeolog@univer.kharkov.ua*

В настоящее время недостаточно изучены нарушения минерального обмена в организме, индуцированные загрязнением окружающей среды. Цель работы — изучить перераспределение микроэлементов в органах белых крыс после нагрузки тяжелыми металлами (Pb и Mn).

Эксперимент проводили на трех группах трехмесячных белых крыс (по 8 в каждой группе). Первой группе внутримышечно вводили раствор $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$, второй — $MnCl_2 \cdot 4H_2O$. Вводимые дозы, эквивалентные количеству металла 50 мг/кг, токсичны для крыс. Третья группа была контрольной. Воздействие продолжалось 7 дней, после была проведена эвтаназия. Микроэлементный состав органов и тканей крыс исследовали методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии.

У крыс, которым вводили соль свинца, в почках наблюдалось статистически значимое увеличение концентрации Pb (до $27,2 \pm 3,0$ мкг/г), незначительное повышение уровня Ca, Mg и Zn и снижение уровня Cu. В костях также наблюдалась тенденция к повышению содержания Pb при снижении в них содержания Ca. Статистически значимое падение концентрации Ca с одновременным повышением содержания Pb отмечается и в селезенке. В печени и сердце наблюдается достоверное снижение уровня Cu (до $0,41 \pm 0,01$ и $0,21 \pm 0,05$ мкг/г соответственно), в сердце еще и Ca, а в печени — Mg. В мышечной ткани незначительно повышались уровни всех исследуемых микроэлементов, за исключением Cu.

Для крыс с интоксикацией марганцем характерно статистически значимое снижение содержания Mg и Cu во всех исследуемых образцах. Повышение концентрации Mn отмечается во всех органах и тканях. Уровень Zn снижается во всех образцах, но достоверными изменения были в сухожилиях, мышцах и сердце.

Выводы: введение Pb отрицательно сказывается на минеральном составе костей, где увеличившееся количество свинца вытесняет кальций. Через почки происходит активное выведение Pb и вытесненного им Ca. Повышение содержания Pb в селезенке ведет к нарушению кроветворения. Избыточное количество Mn усиливает дефицит Mg и Cu, влияет на метаболически активные органы — печень и мышцы (включая сердечную). Общим последствием воздействия Mn является его накопление в органах за счет антагонистических отношений со всеми двухвалентными металлами, включая кальций.

α -РАМНОЗИДАЗА *Cryptococcus albidus*

ГУДЗЕНКО О. В., БОРЗОВА Н. В., ВАРБАНЕЦЬ Л. Д.

*Інститут мікробіології і вірусології
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua*

Одним з ензимів, що в останнє десятиріччя привертає увагу багатьох дослідників, є α -L-рамнозидаза (α -L-рамнозид-рамногідролаза, СЕ 3.2.1.40), яка характеризується специфічністю щодо залишків L-рамнози, присутніх у деяких біофлавоноїдах, глікопротеїнах, гліколіпідах та інших глікокон'югатах. Відсутність вітчизняних препаратів α -L-рамнозидази поставило перед нами завдання пошуку продуцента цього ензиму. Внаслідок скринінгу, проведеного серед музейних штамів мікроорганізмів із колекції ІМВ НАН України, було відібрано перспективний штам *Penicillium commune* і вивчено його властивості. Оскільки відомо, що продуценти мікроміцетів характеризуються низкою недоліків, зокрема деякі з них утворюють токсичні речовини, їхня активність може змінюватися залежно від сезону культивування, було проведено пошук активних продуцентів α -L-рамнозидази серед дріжджів. Виявлено один ефективний штам *Cryptococcus albidus*, з культуральної рідини якого осадженням сульфатом амонію (90%-го насичення) одержано комплексний ензимний препарат та вивчено деякі його фізико-хімічні властивості. рН-Оптимум α -L-рамнозидази складає 5,0, хоча при рН 6,0 ензим зберігає до 95% активності. За значень рН, вищих за 6,5 та за рН 3,0 активність ензиму знижується до 30%. Температурний оптимум α -L-рамнозидази знаходиться при 60 °С, і тільки 50% активності зберігається при 30 та 80 °С. Ензимний препарат стабільний впродовж 120 хв при температурі 60 °С. Вивчення субстратної специфічності ензимного препарату *C. albidus* показало, що, поряд з α -L-рамнозидазною активністю, він виявляє незначну β -D-галактозидазну, β -D-глюкозидазну, α -L-фукозидазну, α -D-манозидазну, N-ацетил- β -D-глюкозамінідазну, 2-ацетамідо-2-деокси- β -D-галактозидазну активність. Здатність одночасно синтезувати значну кількість ензимів трансформації природних субстратів і тим самим діяти на субстрат у комплексі притаманна більшості відомих продуцентів глікозидаз.

Таким чином, одержано штам *C. albidus* — активний продуцент α -L-рамнозидази (0,5–0,6 од/мл у культуральній рідині), яка є рН- та термостабільною.

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ, СТИМУЛИРОВАННОЙ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ КОРДОВОЙ КРОВИ

*ГУЛЕВСКИЙ А. К., МОИСЕЕВА Н. Н., АБАКУМОВА Е. С.,
ГОРИНА О. Л., ЩЕНЯВСКИЙ И. И., НИКОЛЬЧЕНКО А. Ю.,
ИВАНОВ Е. Г.*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, Харьков;
e-mail: moiseeva-nataly@rambler.ru*

На сегодняшний день известно, что компоненты кордовой крови (плазма и сыворотка) стимулируют репаративно-регенерационные процессы в патологически изменённых тканях. В условиях, ограничивающих нормальные функции энергетического метаболизма в поврежденных тканях (гипоксия, активация свободно-радикального окисления, недостаток субстратов), и при повышенном потреблении энергии (репарация) компоненты кордовой крови активируют энергетические процессы путем увеличения транспорта глюкозы, кислорода и усиления их внутриклеточной утилизации, что важно для полноценного протекания восстановительных процессов. Вместе с тем, следует отметить, что биологическая активность низкомолекулярных составляющих кордовой крови изучена недостаточно. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение влияния низкомолекулярных компонентов кордовой крови (до 5 кДа) на биохимические показатели репаративной регенерации в патологически измененных тканях.

При изучении биохимических аспектов репаративного действия низкомолекулярных компонентов кордовой крови на модели термического ожога III В степени было отмечено, что в/м введение низкомолекулярной фракции кордовой крови (ФКК) способствует нормализации содержания ТБК-активных продуктов и активности щелочной фосфатазы в крови экспериментальных крыс, восстановлению содержания глюкозы и снижению соотношения лактат/пируват в ткани раны, что свидетельствует об интенсификации аэробного пути метаболизма глюкозы. Очевидно, эти эффекты объясняют ранее выявленное стимулирующее влияние ФКК на процессы репаративной регенерации кожи: формирование зрелой грануляционной ткани, пролиферацию фибробластов, эпителизацию раневого дефекта.

Введение ФКК экспериментальным животным после моделирования субхронической язвы желудка способствует нормализации содержания ТБК-активных продуктов и активности щелочной фосфатазы в крови и стимулирует биосинтез гликозаминогликанов, что ускоряет репаративные процессы, поскольку глюкозамин, который входит в качестве структурной единицы в макромолекулу фибронектина, положительно влияет на процесс репарации.

Установлено, что внутримышечное введение ФКК крысам после механического повреждения коленного хряща стимулирует в ходе регенерации хрящевой ткани накопление основных компонентов матрикса: гиалуроновой кислоты, хондроитина сульфата и гепарина, а также важнейших аминокислот — оксипролина и тирозина, отражающих содержание коллагеновых и неколлагеновых элементов хряще-

вой ткани. Показано, що введення ФКК нормалізує електролітний обмін іонів Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , а також концентрацію ендотеліна, трийодтироніна і паратиреоїдного гормону в крові підопитних крыс.

В експериментах *in vitro* встановлено, що додавання ФКК в середу інкубації підвергнута кріоконсервуванню лейкоцитів стимулює фагоцитарну активність і кислородозависимий метаболізм деконсервованих нейтрофілів.

Таким образом, встановлено стимулююче впливання низькомолекулярних компонентів кордової крові на репаративно-регенерационні процеси, що обумовлено нормалізацією ключових біохімічних процесів в крові і тканинах експериментальних тварин.

ВПЛИВ ІОНІВ КОБАЛЬТУ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ЕНЗИМІВ І ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ З РІЗНИХ ТКАНИН КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО

ГУСАК В. В., КУБРАК О. І., ВАСИЛЬКІВ О. Ю., ЛУЩАК В. І.

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

Йони кобальту, які є широко розповсюдженими мікроелементами, потрапляють в організм з їжею, водою, безпосередньо через шкірні покриви і збільшують ризик захворювань, що відомі під назвою «мікроелементози». Токсичність кобальту виявляється в індукції оксидативного стресу, до того ж він відіграє роль не менш активного прооксиданту порівняно з, наприклад, іонізуючою радіацією або радіонуклідами. Проте літературні дані щодо впливу йонів кобальту на антиоксидантні ензими досить суперечливі.

Тому метою дослідження було вивчити вплив йонів кобальту на показники оксидативного стресу та активність антиоксидантних ензимів у нирках, мозку і печінці карася сріблястого.

Експозиція риб у присутності йонів кобальту призводила до істотного збільшення вмісту пероксидів ліпідів у мозку і печінці, що свідчить про вільнорадикальне окислення ліпідів в цих тканинах.

Істотне збільшення рівня карбонільних груп протеїнів спостерігали тільки в нирках у присутності найвищої концентрації йонів кобальту.

Йони кобальту в концентраціях 50–150 мг/л не впливають на рівень високомолекулярних тіолів у всіх дослідних тканинах. Значно зменшується вміст низькомолекулярних тіолів у мозку риб.

За дії йонів кобальту активність глутатіонтрансферази та глутатіонпероксидази не змінюється, але активність глутатіонредуктази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази істотно відрізняється від контрольних значень у мозку і нирках риб.

Істотні зміни активності супероксиддисмутази спостерігаються в трьох дослідних тканинах.

Експозиція риб до йонів кобальту призводить до зниження активності каталази в досліджуваних тканинах. Дія йонів кобальту на активність цього ензиму виявляє концентраційну залежність. Так, у мозку та печінці активність каталази істотно зменшується порівняно з контролем.

Отже, дія йонів кобальту на організм дослідних риб призводить до розвитку оксидативного стресу, дія якого проявляється у змінах показників оксидативного стресу і активності антиоксидантних ензимів.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ЗБУДНИКА ІРЖАВО-БУРОЇ ПЛЯМИСТОСТІ СОЇ ЗА ЖИРНОКИСЛОТНИМ СКЛАДОМ ЙОГО КЛІТИН

ДАНКЕВИЧ Л. А., ГНАТЮК Т. Т., ЖИТКЕВИЧ Н. В.

*Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ;
e-mail: ldankevich@ukr.net*

Відомо, що зміни навколишнього середовища часто пов'язані з антропогенним фактором, який суттєво впливає не тільки на макро, а й на мікроорганізми. Так, низкою дослідників показано, що зміна екологічних умов існування мікроорганізмів, відповідно призводить до зміни їхніх властивостей, що дозволяє останнім займати невласливі їм раніше екологічні ніші. Ця тенденція не оминула і патогенні для рослин бактерії. Фітопатологи констатують розширення патогенами, що мають як поліфагову, так і монофагову природу, спектра уражуваних рослин та підвищення рівня агресивності мікроорганізмів, які раніше вважалися умовно патогенними для рослин. Моніторинг посівів сої у Київській та Вінницькій областях виявив нехарактерне для сої бактеріальне захворювання, збудник якого, як показано нами раніше, за патогенними, морфолого-культуральними та біохімічними ознаками подібний до представників виду *Curtobacterium flaccumfaciens*. Оскільки жирнокислотний склад клітинних ліпідів для бактерій є важливою хемотаксономічною ознакою, нами було проаналізовано жирнокислотні спектри збудника іржаво-бурої плямистості сої з метою остаточної його ідентифікації на рівні виду.

Для встановлення складу жирнокислотного складу клітинних ліпідів бактерії культивували протягом доби на картопляному агарі при 28 °С. Для аналізу використовували 100 мг клітин до яких додавали 5 мл 5%-го розчину ацетил хлориду в метанолі. Метаноліз жирних кислот проводили протягом 4 год при 100 °С з подальшою екстракцією сумішшю ефір-гексан (1 : 1). Визначення складу метилових ефірів жирних кислот здійснювали за допомогою мас-спектрометричної хроматографічної системи Agilent 6800N/5973 inert.

У жирнокислотних спектрах як колекційних, так і виділених нами штамів виявлено вузький спектр жирних кислот з довжиною ланцюга від C_{15:0} до C_{17:0} атомів вуглецю. В усіх досліджених спектрах домінуючими є 12-метилтетрадеканова кислота (C_{15:0anteiso}), 14-метилгексадеканова (C_{17:0anteiso}) та 14-метилпентадеканова (C_{16:0iso}) кислоти, які є маркерними як для роду *Curtobacterium*, так і для виду *Curtobacterium flaccumfaciens*. Зокрема, вміст цих кислот у ліпідах клітин як колекційних, так і виділених нами штамів, дорівнює приблизно 96% від загальної площі піків. Слід

відмітити, що кількість антиізоокислот є більшою за 75% від загальної площі піків. У жирнокислотних профілях досліджених штамів у значно меншій кількості також присутні $C_{15:0iso}$, $C_{16:0}$ та $C_{17:0iso}$ кислоти, що не суперечить даним літератури і свідчить про значну спорідненість досліджуваних штамів із представниками виду *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

ВЛИЯНИЕ ГЛИЦЕРИНА И ДМСО НА СТЕПЕНЬ СОХРАННОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ И КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА СОБАК В ПРОЦЕССЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО КОНСЕРВИРОВАНИЯ

ДЕНИСОВА О. Н., ВОДОПЬЯНОВА Л. А., ЖЕГУНОВ Г. Ф.

Харьковская государственная зооветеринарная академия
Министерства аграрной политики Украины;
e-mail: denisova78@mail.ru

В замороженном состоянии биообъекты хранятся продолжительное время, что позволяет создавать банки клеточного материала. Известны методы замораживания—отогрева эритроцитов и клеток костного мозга (ККМ) человека, но эффективные способы криоконсервирования этих клеток домашних животных еще не разработаны. Целью работы было оценить эффективность криопротекторов (ДМСО, глицерола) при низкотемпературном консервировании эритроцитов и ККМ собак.

Проведенные исследования показали, что глицерол, который является наиболее используемым для криоконсервирования эритроцитов человека, не оказывает криозащитного действия при замораживании—отогреве эритроцитов собак. Степень гемолиза эритроцитов после замораживания в его присутствии составляет 60%.

Использование ДМСО в 10%-й концентрации было более успешным. Величина гемолиза эритроцитов собак после замораживания—отогрева под защитой ДМСО составляет 30%. Эритроциты, криоконсервированные под защитой ДМСО, проявляют также высокую устойчивость в модели трансфузии (гемолиз 5–10%) с сохранением осмотической хрупкости на уровне контроля. Криоконсервирование эритроцитов собак с ДМСО позволяет сохранить содержание АТР и 2,3-ДФГ на уровне контроля. Показано, что глицерол очень медленно проникает в эритроциты собак, а ДМСО проникает в те же эритроциты на порядок быстрее. Это, скорее всего, и обуславливает лучшую сохранность эритроцитов собак в процессе криоконсервирования под защитой ДМСО, в отличие от глицерола.

Показано, что сохранность ККМ собак после замораживания—отогрева без криопротектора очень мала. При этом отсутствуют клетки эритроцитарного ряда, мегакариоциты и моноциты, резко сокращается количество зрелых гранулоцитов, а количество бластов и лимфоцитов значительно снижается. После замораживания—отогрева с глицеролом общее число ККМ собак значительно сокращается. При этом глицерол в концентрации 10, 20 и 30% оказывает наименьшую защиту клеток гранулоцитарного ряда. Более выраженным криопротекторным действием обладает ДМСО в концентрации 7%, который обеспечивает сохранность клеток до

98%. При этом состав костного мозга изменяется, в основном, за счет снижения количества клеток, находящихся на завершающих этапах созревания. Это, по-видимому, не должно отражаться на терапевтических свойствах, так как эффект, в основном, зависит от стволовых клеток и клеток, находящихся на ранних стадиях дифференцировки.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать вывод, что глицерол не является эффективным криопротектором для эритроцитов и ККМ собак. Более эффективным (по совокупности исследуемых параметров) для эритроцитов и ККМ собак является ДМСО, который обеспечивает приемлемый уровень сохранности клеток после замораживания–отогрева.

КОНЦЕНТРАЦІЯ МАКРО- ТА МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У КРОВІ КРОЛІВ ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ СТРОНЦІЮ ХЛОРИДОМ

ДЕРКАЧ Є. А., ШЕПЕЛЬОВА І. А.

*Національний університет біоресурсів
і природокористування України, Київ;
e-mail: iryna-sh@yandex.ru*

Стронцій у великій кількості надходить у навколишнє середовище у зв'язку з інтенсивним антропогенним забрудненням, і, особливо, під час техногенних викидів підприємствами атомної, хімічної та паливно-енергетичної промисловості. Біохімічною основою прооксидантної дії солей стронцію є блокування SH-груп відновленого глутатіону та ензимів системи антиоксидантного захисту, зміна інтенсивності окисно-відновних процесів, і, як наслідок — порушення вуглеводного, ліпідного, протеїнового та мінерального обмінів в отруєному організмі.

Метою нашої роботи було дослідити вплив стронцію на зміну концентрації натрію, калію, кальцію, феруму, купруму у крові кролів, отруєних стронцію хлоридом.

Дослідження проводили на статевозрілих самцях кролів породи Радянська шиншила, які утримувались на стандартному раціоні. Отруєння кролів стронцію хлоридом проводили шляхом щоденного перорального введення стронцію хлориду в дозі 1/15 ЛД₅₀ (із розрахунку 0,006 г стронцію хлориду на 100 г маси тіла) упродовж 14 діб. Дослідні кролі були поділені на 2 групи: I — інтактні кролі; II — кролі, отруєні стронцію хлоридом. Матеріалом для дослідження слугувала кров кролів дослідної групи.

Визначення концентрації натрію, калію, кальцію, феруму, купруму в крові кролів проводили на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС-30 (Німеччина).

Результати досліджень показали, що у крові кролів, отруєних стронцію хлоридом, концентрація кальцію зростає в 3,1 раза. Також відмічено підвищення концентрації натрію на 94,0%, калію — на 17,8% та купруму — в 2,1 раза відносно кролів інтактної групи. При цьому концентрація феруму знижується на 27,6% відносно контролю.

Різностямовані зміни електролітного складу крові є характерною реакцією організму в умовах отруєння сполуками важких металів, що, можливо, пов'язано з

компенсацією метаболічного ацидозу, який виникає за ураження стронцію хлоридом. З іншого боку, зазначені зміни можна пояснити порушенням Na^+ , K^+ -помпи, конкурентною взаємодією стронцію з іншими елементами у структурі біологічних лігандів, і, як наслідок, між тканинним перерозподілом цих елементів в отруєному організмі.

ОЦІНКА БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОСУМІСНОСТІ НАНОМАТЕРІАЛІВ ОРГАНІЧНОЇ ТА НЕОРГАНІЧНОЇ ПРИРОДИ

¹ДИБКОВА С. М., ¹ГРУЗІНА Т. Г., ¹РЄЗНІЧЕНКО Л. С.,
¹УЛЬБЕРГ З. Р., ²УШКАЛОВ В. О., ²ГОЛОВКО А. М.

*Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України, Київ;
e-mail: tgruzina@mail.ru;*

*Державний науково-контрольний інститут біотехнології
та штамів мікроорганізмів, Київ, Україна;
e-mail: admin@biocontrol.kiev.ua*

Нинішній етап розвитку нанотехнологій потребує створення банку біобезпечних та біосумісних наноматеріалів. Дослідження потенційних ризиків використання наноматеріалів може бути адекватним за використання ключових системних характеристик живого організму (фізіологічних, біохімічних, імунологічних, генетичних тощо), які чутливі до токсичної дії. Такі характеристики вважають системними біомаркерами.

Метою досліджень була оцінка біобезпеки та біосумісності наноматеріалів органічної природи (ветеринарних вакцин) та неорганічної (наночастинок металів, перспективних в біотехнології) з використанням генетичних та біохімічних системних біомаркерів.

Дослідження виконано на тестових культурах клітин СНО-K1, U937, бактеріальних штаммах-пробіонтах.

Встановлено, що біологічна безпека наночастинок металів залежить від дискретного розміру їх. Серед вивчених наночастинок металів різного розміру як біобезпечні та біосумісні рекомендовано наночастинки золота середнього розміру 30 нм, заліза — 77 нм, срібла — 30 нм.

Показано, що використані системні біомаркери, такі як генотоксичність, активність мембранозв'язаних та цитозольних ферментів тестових клітин, фізіологічний стан бактерій-представників нормофлори шлунково-кишкового тракту людини є адекватними та високопрогностичними в оцінці біобезпеки та біосумісності наноматеріалів різної природи.

**БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НАНОРОЗМІРНИХ
ФЕРОМАГНІТНИХ СТРУКТУР CoFe_2O_4 ТА CuFe_2O_4
ЗА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ**

¹ДОНЧЕНКО Г. В., ²ЛАВРИНЕНКО Е. А., ²ПРОКОПЕНКО В. А.,
³ТОДОР І. М., ¹ПАЛИВОДА О. М., ¹ДУБОВЕЦЬКИЙ А. С.,
¹ФІЛІППОВИЧ В. П., ¹КУЗЬМЕНКО О. І.

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

²Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України, Київ;

³Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології

ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;

e-mail: dubovetskiy@i.ua

Згідно із Законом України від 23.12.2009 року № 1794-VI боротьба з онкологічними захворюваннями є актуальною проблемою в нашій країні. В Україні щороку діагностується більше 150 тисяч нових хворих із злоякісними новоутвореннями. Майже 90 тисяч жителів України щорічно помирають від раку, 35 відсотків померлих – особи працездатного віку. Стрімкий розвиток нанотехнологій знаходить своє відображення в багатьох галузях народного господарства, зокрема в медицині у пошуку шляхів вирішення проблеми діагностики та лікування онкологічних захворювань.

Робочою гіпотезою даних досліджень є можливість адресної доставки магнітних нанорозмірних сполук до уражених пухлиною органів під впливом магнітного поля. Передбачається, що адресна доставка нанорозмірних сполук збільшить ефективність, специфічність та зменшить токсичність нових лікарських засобів порівняно із традиційними. Встановлення біологічної активності нанорозмірних сполук є метою нашого дослідження.

У роботі використовували модельну систему вільнорадикального окислення ліпідів сироватки крові *in vitro*. Окислення проводили, як у присутності ініціатора окислення – міді, так і за його відсутності. Окислення ліпідів визначали спектрофотометричним методом реакції продуктів окислення з тіобарбітуровою кислотою за зміною абсорбції. Як субстрат була взято сироватку крові щура. Як стандартний інгібітор окислення ліпідів застосовували синтетичний антиоксидант іюнол.

У ході роботи було встановлено, що нанорозмірна структура CoFe_2O_4 прискорює окислення ліпідів сироватки крові, отже проявляє прооксидантні властивості. Нанорозмірна структура CuFe_2O_4 сповільнює окислення ліпідів сироватки крові, виявляє антиоксидантні властивості у процесі вільнорадикального окислення ліпідів. Проводиться подальше вивчення біологічної активності зазначених вище нанорозмірних структур та висуваються рекомендації, щодо використання їх в медицині, зокрема в онкології.

Робота виконана за підтримки Міністерства освіти і науки України, договір № ДЗ/469-2009 від 17.07.2009 р.

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОРМОНСИНТЕЗУЮЧОЇ ЗДАТНОСТІ ДЕЯКИХ ҐРУНТОВИХ МІКРООРГАНІЗМІВ *IN VITRO*

¹ДРАГОВОЗ І. В., ²ЛЕОНОВА Н. О., ²БІЛЯВСЬКА Л. О.

¹Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ;

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного

НАН України, Київ;

e-mail: natikleo@online.ua

В умовах сучасного землеробства для підвищення симбіотичного потенціалу мікробно-рослинних систем актуальним є створення композиційних препаратів на основі вискоєфективних штамів ґрунтових мікроорганізмів, які виявляють широкий спектр біологічної активності. Виникає питання, чи існує різниця у синтезі фітогормонів симбіотичними і вільноіснуючими мікроорганізмами у зв'язку з їхньою ефективністю фіксування атмосферного азоту.

Метою роботи було дослідити гормонсинтезуючу здатність деяких вільноіснуючих та симбіотичних ризосферних мікроорганізмів *in vitro* і фізико-хімічними методами оцінити якісний і кількісний склад синтезованих фітогормонів. Об'єктами дослідження були штами ґрунтових діазотрофних мікроорганізмів із колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Визначення фітогормонів проводили в біомасі та культуральних середовищах досліджуваних мікроорганізмів.

Одержані результати показали дуже низький рівень або подекуди повну відсутність гормональних сполук ауксинової та цитокінінової природи в біомасі досліджених штамів вільноіснуючих діазотрофів роду *Azotobacter*. Хоча вміст цитокінінів у біомасі досліджуваних ґрунтових мікроорганізмів був незначним, варто відмітити здатність всіх досліджених штамів продукувати зеатин-рибозид — транспортну форму цитокінінів, що, ймовірно, має певну фізіологічну доцільність за взаємодії з рослиною-господарем.

Одночасно з визначенням накопичення фітогормонів у біомасі бактерій було проведено дослідження здатності мікроорганізмів продукувати ці сполуки як екзо-метаболіти в культуральне середовище. Слід підкреслити, що дуже високою здатністю до синтезу ауксинів і цитокінінів характеризувались симбіотичні штами роду *Bradyrhizobium*, зокрема ризобії сої. Варто зауважити, що практично всі досліджувані мікроорганізми здатні продукувати гібереліни в культуральне середовище, але порівняно з ауксинами і цитокінінами вони присутні у незначній кількості.

Таким чином, висока біологічна активність досліджуваних штамів вільноіснуючих і симбіотичних азотфіксуючих бактерій, на нашу думку, значною мірою пов'язана з їхньою підвищеною здатністю до синтезу гормонів ауксинового і цитокінінового типу, і яку можна розглядати як один із механізмів адаптації ґрунтових мікроорганізмів до умов навколишнього середовища. Слід також підкреслити, що фітогормональні сполуки відіграють важливу роль у процесах обміну продуктами метаболізму між рослиною і бактеріями, що позитивно впливає на ростові і формотворчі процеси в рослині з одного боку (за рахунок зміни пулу і співвідношення ауксинів і цитокінінів в рослинних тканинах) і колонізацію ри-

зоплани ґрунтовою мікрофлорою, з іншого. Зроблено висновок, що культуральні рідини досліджуваних штамів ґрунтових мікроорганізмів (родів *Bradyrhizobium* та *Azotobacter*) можна використовувати для створення композиційних препаратів, що поєднують здатність культур до фіксації азоту і одночасно виявляють властивості регуляторів росту рослин.

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ, СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ТА РІВНЯ ЦЕРУЛОПЛАЗМІНУ В ПЕЧІНЦІ КУРЕЙ І ЇХНІХ ЕМБРІОНІВ ЗАЛЕЖНО ВІД КАРОТИНОЇДІВ У РАЦІОНІ

ДУХ О. І., БОВК С. О.

*Львівський національний аграрний університет, Україна;
e-mail: olja_dykh@ukr.net*

Відомо, що каротиноїди як природні антиоксиданти завдяки наявності спряжених подвійних зв'язків, зв'язують у клітинах синглетний кисень та інгібують утворення вільних радикалів (Abd El-Baky H. et. al. 2007; Britton G. 1995; Камінська М. В. 2004).

Метою нашої роботи було дослідження впливу рівня каротиноїдів у раціоні племінних курей у період інтенсивної яйцекладки на активність каталази (КАТ), супероксиддисмутази (СОД) та рівень церулоплазміну (ЦП) в печінці курей та їхніх 19-добових ембріонів.

Дослідження проводили на 4 групах курей 220-добового віку породи Шавер-579. Кури 1-ї (контрольної) групи отримували стандартний комбікорм, збалансований згідно з нормами живлення, без добавки каротиноїдів до раціону. Кури 2-ї групи додатково отримували 8 г каротиноїдів, 3-ї — 16 г, а 4-ї — 32 г каротиноїдів на 1 тону комбікорму, що становило відповідно 0,92 мг; 1,84 мг; 3,68 мг на голову на добу. У дослідженнях використовували каротиноїдні препарати «ОРО ГЛО 20 СУХИЙ» фірми Kemin Europa N.V. (Бельгія) у вигляді добавки до комбікорму, вміст ксантофілів (лютеїну і зеаксантину) в якому становить 20 г/кг.

Внаслідок проведених досліджень у печінці курей 2-ї, 3-ї та 4-ї дослідних груп виявлено зростання активності КАТ відповідно на 36,7; 67,6 і 67,9% порівняно із контролем ($P < 0,001$). Також спостерігається вірогідне зростання активності СОД у печінці курей дослідних груп у 2,01–2,09 раза ($P < 0,001$). Порівняно з контрольною групою в печінці курей 2-ї, 3-ї і 4-ї дослідних груп рівень ЦП вище відповідно на 14,4% ($P < 0,05$); 27,3% ($P > 0,05$) та 49,5% ($P < 0,01$).

Нами також встановлено суттєві зміни в активності ензимів системи антиоксидантного захисту (АОЗ) в печінці 19-добових ембріонів дослідних груп порівняно з контрольною. Зокрема, показано, що активність КАТ у печінці ембріонів 2-ї, 3-ї та 4-ї дослідних груп збільшилась порівняно із контролем відповідно на 46, 56 і 75% ($P < 0,01$), а активність СОД відповідно — у 1,31; 1,45 та 1,95 раза ($P < 0,05$ – $0,01$). Разом із тим встановлено високий позитивний кореляційний зв'язок між активністю СОД та КАТ у печінці 19-добових курячих ембріонів ($r = 0,93$). Щодо рівня ЦП в печінці ембріонів, то у 2-й, 3-й і 4-й дослідних групах він зріс на 16, 19 і 20,4% ($P < 0,05$) порівняно із контрольною групою.

В цілому, із одержаних результатів випливає, що підвищений рівень каротиноїдів у раціоні курей в репродуктивний період підвищує активність СОД, КАТ та рівень ЦП у печінці 19-добових ембріонів, що може бути розглянуто як важливий біохімічний механізм у профілактиці оксидативного стресу в добових пташенят.

ВПЛИВ ВІТАМІНУ Е НА ЗАТРИМКУ СТРОНЦІЮ В ОРГАНІЗМІ

ЗАЛІПУХІН О. Д.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: magystr_dep@twin.nauu.kiev.ua*

Дослідженнями останніх років встановлено, що у патогенезі більшості захворювань, які виникають внаслідок токсичного ураження важкими металами, представником яких є стронцій, важливу роль відіграє вільнорадикальне окислення, яке призводить до ушкодження мембран і загибелі клітин. З метою корекції таких патологічних процесів використовують цілу низку методів та засобів, залежно від стадії процесу та тяжкості перебігу хвороби. Перспективним і сучасним методом корекції, в тому числі і токсичних уражень печінки, є використання антиоксидантів, до яких належить вітамін Е (альфа-токоферол ацетат). Дослідженнями ставилося завдання отримання ефективного способу зменшення рівня переходу стронцію з кормів в організм тварин, що вирощуються у біогеохімічних провінціях, в яких підвищений природний вміст стронцію. В основі даної моделі лежать антиоксидантні та імуномодуючі властивості вітаміну Е, які базуються на зниженні рівня пероксидного окислення поліненасичених жирних кислот клітинних мембран у присутності цього вітаміну. Дослідження виконано на трьох групах кролів породи Радянська шиншила, у кожену з яких було відібрано по 7 кролів: перша група — контрольна — інтактні молоді кролі; друга — кролі, отруєні *per os* стронцію хлоридом протягом 14 діб у дозі 50 мг/кг з концентрацією солі в розчині 3,6%; третя — кролі, отруєні *per os* стронцію хлоридом протягом 14 діб, які паралельно раз на добу, внутрішньошлунково (*per os*) отримували вітамін Е у дозі 3 мг/кг (30%-й олійний розчин). Вміст стронцію в досліджуваних зразках визначали спектрохімічним методом, використовуючи режим абсорбції в повітряно-ацетиленовому полум'ї на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС-30 фірми Карл Цейс (Німеччина). Контролем слугували стандартні зразки розчинів стронцію, виготовлені в Інституті фізичної хімії НАН України (м. Одеса). Внаслідок проведених досліджень відмічено, що введення вітаміну Е кролям, отруєним стронцію хлоридом, приводить до зменшення накопичення стронцію у крові на 50%, у печінці — на 19%, у нирках — на 48%, у кістках — на 29%. Отже, стабілізуюча роль вітаміну Е у клітинних мембранах, можливо, зумовлена його взаємодією з протеїнами, фосфоліпідами і вільними жирними кислотами, які включають взаємодію як ізопренового ланцюга, так і хроматинового ядра. Таким чином, введення вітаміну Е кролям, отруєним стронцію хлоридом, знижує перехід стронцію з кормів в організм тварин, що є важливим для проведення профілактичних заходів у біогеохімічних провінціях України з високим вмістом важких металів у довкіллі.

ОСОБЛИВОСТІ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ГЕПАТОПАНКРЕАСІ КОРОПА ЗА ДІЇ ТОКСИЧНИХ СПОЛУК СТИЧНИХ ВОД ТВАРИННИЦЬКИХ ПІДПРИЄМСТВ

ЗАХАРЕНКО М. О., КУРБАТОВА І. М.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: innakurbatova@ukr.net*

Забруднення навколишнього середовища відходами промислового виробництва, мінеральними добривами, пестицидами призвело до погіршення екологічної ситуації в різних регіонах країни. У зв'язку з цим виникла необхідність проведення досліджень комплексного впливу токсичних сполук стічних вод на основні об'єкти аквакультури внутрішніх водойм.

Мета роботи — вивчити показники вуглеводного обміну в гепатопанкреасі риб за дії токсичних сполук стоків тваринницьких об'єктів.

Дослідження проведені на п'яти групах дволіток коропа в акваріумах об'ємом 40 л. До води акваріума додавали різну кількість стоків тваринницьких об'єктів. У воду для риб першої дослідної групи додавали 0,3 мл, другої — 0,6 мл, третьої — 1,2 мл і четвертої — 2,5 мл стоків на 1 л води. Контрольну групу риб витримували у звичайній відстояній воді. Коропів всіх груп витримували у воді протягом 120 годин, після чого забивали та відбирали тканини для біохімічних досліджень.

У стічних водах тваринницьких підприємств виявлено низку органічних кислот, феноли та їхні похідні, гормони та продукти обміну й інші речовини, які впливають на хімічний склад води, а тим самим і на перебіг процесів обміну у тканинах водних організмів. Їхня дія виявляється насамперед у гальмуванні реакцій тканинного дихання та активації процесів гліколізу у клітині. Встановлено, що із збільшенням вмісту стоків у воді акваріумів, вміст глюкози в гепатопанкреасі риб знижується на 6,3% (1-а група), 11,3% (2-а група), 19,1% (3-я група) та на 22,5% (4-а група) порівняно з контролем. Одержані результати узгоджуються з підвищенням активності лактатдегідрогенази (ЛДГ) та концентрації лактату у клітинах гепатопанкреасу риб після додавання у воду акваріумів стоків свиногокомплексу різної концентрації. Так, зі збільшенням концентрації стоків у воді акваріума, активність ЛДГ в гепатопанкреасі риб підвищується на 12,3% (1-а група), 16,4% (2-а група), 19,5% (3-я група) та відповідно на 27,2% (4-а група) порівняно з контролем. При цьому вміст лактату зростає на 6,8; 14,0; 19,6 і 25,2% порівняно з контрольною групою коропа.

Таким чином, додавання у воду акваріумів стоків тваринницьких об'єктів, які містять токсичні сполуки в різній концентрації активує процеси анаеробного окислення глюкози у клітинах гепатопанкреаса коропа, що свідчить про зниження енергозабезпечення організму риб.

ВПЛИВ ДІЇ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК ІЗ ЦУКРОВОГО БУРЯКУ ТА РІПАКУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЩУРІВ

¹ЗАХАРІЄВА З. Є., ¹БУДНЯК О. Л., ¹ДАНІЛОВА А. О.,
¹БУДНЯК О. К., ¹ЧЕРНАДЧУК С. С., ¹ФЕДОРКО Н. Л., ¹СОРОКІН А. В.,
¹ЗАПОРОЖЧЕНКО О. В., ²ДАНІЛОВА О. І., ²САЛАВЕЛІС А. Д.

¹Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Україна;

²Одеська національна академія харчових технологій, Україна;

e-mail: budnyak2005@ukr.net

Вивчення біохімічних механізмів захисту організму від наслідків дії токсичних речовин є актуальним завданням біохімії та медицини. Останнім часом триває пошук препаратів природного походження, які виявляють антиокислюючі та гепатопротекторні властивості. Одним із напрямів таких досліджень є використання побічних продуктів переробки цукрового буряку та ріпаку — жомів, шротів та жмивів як харчових добавок у харчовій промисловості та засобів первинної профілактики захворювань у вигляді біологічно активних добавок (БАД) в медичній практиці. Метою роботи було визначення ступеня протекторної дії високовуглеводного жому з цукрового буряку та харчових продуктів переробки насіння ріпаку (олія, жмив, знежирений шрот) на біохімічні показники щурів при деяких експериментальних патологіях.

Біопрепарати з цукрового буряку містили високовуглеводні харчові волокна, а БАДи з ріпаку — протеїни, жирні кислоти, у тому числі і есенціальні, та антиокислювальні сполуки. Використання цих БАД протягом місяця суттєво не змінює стан окислювально-відновлювальних процесів в органах здорових щурів.

Протекторну дію БАД із цукрового буряку було досліджено на моделі алоксанового діабету, який спричинювали одноразовою внутрішньочеревинною ін'єкцією розчину алоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла щурів. Протекторну дію знежиреного шроту вивчали в щурів із токсичним гепатитом, який викликали внутрішньочеревинною ін'єкцією 50%-го розчину CCl_4 в оливковій олії в дозі 0,4 мл/кг маси тіла щурів одноразово. Щурів брали в досліді на 3–5-у добу після ін'єкцій. Одержано позитивний ефект впливу цих БАДів на показники активності дегідрогеназ циклу трикарбонових кислот (піруватдегідрогенази, оксоглутаратдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази), лактатдегідрогенази, аспартат- та аланінамінотрансферази, концентрації пірувату, оксоглутарату, малонового діальдегіду, відновленого глутатіону, аскорбінової кислоти.

БАКТЕРІОЦИНИ ЗБУДНИКІВ БАКТЕРІАЛЬНОГО РАКУ ВІНОГРАДУ

ІВАНИЦЯ В. О., ЛІМАНСЬКА Н. В., СЕРГЄЄВА Ж. Ю.,
ГАВРИК А. Г., ТОВКАЧ Ф. І.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Україна;
e-mail: limanska@gmail.com

Застосування хімічних засобів захисту рослин від низки бактеріозів не є ефективним, оскільки фітопатогени — збудники цих захворювань — населяють внутрішні тканини. Більше того, масоване застосування синтетичних речовин з бактеріцидною або фунгіцидною активністю порушує кількісні співвідношення нормальної мікробіоти рослин, ґрунту і призводить до порушення балансу в агроценозах та робить рослинні продукти шкідливими для людини. У зв'язку з цим одним із перспективних напрямів досліджень є розробка біологічних засобів контролю за збудниками бактеріальних інфекцій.

Одним із найбільш шкодочинних бактеріальних захворювань винограду в Україні і світі, що призводить до значних втрат виноградарства, є бактеріальний рак. Урожайність уражених рослин зменшується до 40%. Для боротьби з бактеріальним раком винограду, що спричиняється бактеріями роду *Agrobacterium*, передбачається вивчити та використати конкурентний антагоністичний потенціал самих ризобій, а саме їх бактеріоцини.

Метою досліджень є встановлення бактеріоциногенних властивостей штамів збудників бактеріального раку — *Rhizobium vitis* та *R. radiobacter* (*Agrobacterium vitis* та *A. tumefaciens*) та вивчення їхніх бактеріоцинів.

Бактеріоцини збудників бактеріального раку вивчено дуже мало [Zimmerer, 1966; Boyd, 1970; Moore, 1979; Liang, 2001; Eayre, 2003], що робить актуальним проведення дослідження та оцінку потенціалу їхнього використання у біологічному захисті рослин винограду.

У ході дослідження ступеня інфікування виноградників в Одеській області ізольовані та ідентифіковані штами віднесено до видів *Rhizobium vitis* та *R. radiobacter*. Вивчення 87 ізольованих та колекційних штамів ризобій показало, що всі вони різною мірою виявляють бактеріоциногенну активність, причому спектр активності має штамову специфічність. Найактивніші штами обрано як потенційні біологічні агенти захисту рослин. Для них встановлено оптимальні умови, за яких спостерігається максимальний вихід бактеріоцинів та накопичення їх у культуральному середовищі.

Встановлено хімічну природу антагоністичних агентів досліджуваних штамів і показано, що вони є ДНК-протеїновими комплексами. Бактеріоцини ризобій пригнічують ріст як бактерій-збудників, ізольованих із різних виноградників, так і бактерій-фітопатогенів інших таксономічних груп, що вказує на широкий спектр їхньої антагоністичної активності та перспективи в дослідженні їх для розробки біологічних засобів контролю за збудниками бактеріального раку.

Роботу було виконано у рамках проекту Міністерства освіти і науки України НУ/448-2009 від 06.07.2009.

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ЯК СИСТЕМНИЙ БІОМАРКЕР БІОБЕЗПЕЧНОСТІ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ

*ІВАЩЕНКО Г. В., ВЕМБЕР В. В., ГРУЗІНА Т. Г.,
РЄЗНІЧЕНКО Л. С., УЛЬБЕРГ З. Р.*

*Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка
НАН України, Київ;
e-mail: tgruzina@mail.ru*

Сучасний рівень застосування наноматеріалів у різних сферах людської діяльності потребує невідкладних досліджень їхньої біобезпечності. На цьому шляху пошук біологічних маркерів токсичності наноматеріалів різної природи є надзвичайно актуальним завданням. Наночастинки металів, особливо золота, знаходять широке застосування в сучасній нанобіотехнології та наномедицині.

Метою даної роботи було вивчення особливостей впливу наночастинок золота різного розміру на інтенсивність процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) з метою використання цього показника як системного маркера біобезпечності наночастинок металів. Цей показник є загальновідомим чутливим біомаркером інтегрального цитотоксичного впливу різних шкочинних агентів на клітину.

Вивчено вплив наночастинок золота дискретних розмірів 10, 20 та 45 нм у концентраційному діапазоні від 3,3 до $3,3 \cdot 10^{-5}$ мкг/мл на бактеріальні клітини *Escherichia coli* 1257. Експозиція бактеріальних клітин з наночастинками золота тривала протягом 30 хв, після чого з клітин екстрагували ліпіди та визначали продукти ПОЛ — дієнові кон'югати (ДК) та малоновий діальдегід (МДА).

Показано, що за вивченими показниками бактеріальні клітини по різному реагують на присутність наночастинок золота різного розміру у середовищі інкубації. Так, наночастинки золота розміром 10 нм підвищують рівень накопичення ДК та МДА в концентраційному діапазоні від 0,33 до 3,3 мкг/мл. Наночастинки розміром 20 нм призводять до підвищення рівня ДК, проте накопичення МДА підтримується на нормальному для клітин рівні. Це може свідчити про активацію антиокислювальної системи, яка елімінує продукти окислювальної деградації. Наночастинки розміром 45 нм вірогідно не змінюють рівень ПОЛ.

Одержані дані свідчать про чутливість показника інтенсивності ПОЛ бактеріальних клітин до впливу наночастинок золота різного розміру та підтверджують можливість його використання як одного із системних біомаркерів біобезпечності наночастинок металів.

**BIOCHEMICAL COMPOSITION AND COMPLEX
APPLICATION OF *Blakeslea trispora* MICROBIOLOGICAL
SYNTHESIS PRODUCTS**

¹KALINKEVICH O. V., ²KINDYA V. I., ²BOZHKO N. V.,
¹KALINKEVICH A. N., ¹CHIVANOV V. D.

¹Institute for Applied Physics, Sumy, Ukraine;

²Sumy National Agrarian University, Ukraine;

e-mail: bio20001@yandex.ru

Mycelial fungus *Blakeslea trispora* is a promising producer of carotenoid pigments. The industrial production of fungal biomass exists in Ukraine since 1981, and since that time the production technology had constantly been improved. The goal of the technology improvements is to increase the output not only of carotenoid pigments, but also of the accompanying compounds: tocopherols, ubiquinones, phospholipids, sterols, chitosans and other important bioorganic substances. Our *B. trispora* biomass investigations show that the industrial production of the fungal mass can be a unique source of the raw products for pharmaceuticals, fodder and food industry, which gives the possibility to proceed from the present (in most cases) extensive technologies to the high-end technologies in this field.

As it is known, the mycelial fungi can synthesize a wide range of protein and lipid substances, vitamins and their precursors, and other physiologically active compounds. Along with carotenoids, other valuable compounds can be extracted from the *B. trispora* biomass. The fungus is extremely sensitive to the changes in the cultivation conditions. For example, the phosphate deficiency in the culture medium stimulates glycolipid synthesis, the stress factors (UV-irradiation, presence of oxidants or coordination 3d-metal compounds in the medium) lead to changes of the lipid composition, especially fatty acid ratio, while the superoxide dismutase inhibitors increase the carotenoid yield.

The characteristics of the chemical composition of *B. trispora* biomass and biocake were investigated. The comparative analysis of carotene-containing products according to the content of basic nutrients and biologically active substances was performed. The investigations were carried out concerning the pigment composition of the biomass and biocake. The peculiarities of fraction composition and some physico-chemical characteristics of *B. trispora* lipids were studied. A mass spectrometry method for the express fingerprint analysis of the *B. trispora* biomass lipid profile is proposed. The *B. trispora* biomass chemical composition differ in the different parties. This variability can either indicate the technology instability or show the prospects of obtaining biomasses with the specific-purpose chemical composition. Biomass remains (after extraction of basic products – carotenoids) can be effectively used in animal breeding as additional ingredients for feeding additives, substitutes of milk, adjuvants etc. Experimental agricultural animal studies prove high biological activity of the preparations. Disintegration of biomass remains in aqueous medium allows obtaining of phospholipids rich preparations, which also can be used in agriculture.

Fungal mycelial wastes can also be alternative sources of chitin/chitosan materials, in addition to the traditional industrial source, the crustacean waste. Moreover, the fungal chitosans have unique properties in comparison with those derived from *Crustacea*. We have investigated the possibility of production of chitosan from *B. trispora* mycelial wastes.

Chitosan was extracted from *B. trispora* using alkali extraction and characterized by physicochemical methods (FTIR spectroscopy, SEM). On the basis of the obtained fungal chitosan, composite calcium-phosphate materials have been synthesized. These materials can be used in bone defect replacement. Furthermore, water extract of biomass containing reducing compounds can be used for “green chemistry” synthesis of silver nanoparticles.

So, the detailed study of chemical composition of the *B. trispora* biomass is necessary because it can be a source not only of carotene, but also of other valuable compounds.

РАКООБРАЗНЫЕ ЧЕРНОГО МОРЯ – ИСТОЧНИК ВАЖНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

КАНДЮК Р. П.

Одесский филиал Института биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского, Украина;
e-mail: obibss@paco.net

В связи с глобальным загрязнением морей и океанов актуальной становится проблема создания управляемых морских хозяйств с целью культивирования морских беспозвоночных. Из ракообразных, пригодных для выращивания в морской воде, наибольший интерес представляют креветки, которых культивируют во всем мире. Они быстро растут и пользуются большим спросом, поэтому исключительно подходят для интенсивного культивирования.

Мясо креветок отличается большой питательностью и применяется для изготовления различных деликатесов в консервированном виде, а также в свежем или сушеном для откорма птицы, свиней и других сельскохозяйственных животных. Кроме того, креветку перерабатывают на кормовую муку, которая, как показала практика, при добавлении в кормовой рацион повышает яйценоскость кур, молочность скота, количество жира у свиней и шерсти у овец.

В Черном море обитает три вида креветок: травяная креветка *Pandalus adspersus*, каменистая *P. elegans*, и шримс обыкновенный *Crangon crangon*. Размеры их разнообразны (до 30 см).

Мы исследовали содержание стерина у травяной креветки *P. adspersus* и каменной *P. elegans*. Обнаружены 7-дегидрохолестерол, десмостерин, холестерол, вещество с Rf 0,4 и вещество с Rf 0,69. Особый интерес представляет 7-дегидрохолестерол, который является предшественником витамина D₃, играющим важную роль в метаболизме.

Чаще всего панцири креветок, крабов, раков и других ракообразных выбрасывались как отходы консервной промышленности. Однако установлено, что в них содержатся важные биологически активные вещества. В результате комплексной переработки отходов промысла ракообразных получены энзиматические протеиновые гидролизаты, которые используются в качестве основы микробиологических питательных сред, а также хитин и хитозан. Особый интерес представляет хитозан — натуральный полисахарид, обладающий способностью связывать жиры. Поэтому в диетических программах его применяют как адсорбент жира, делающий жир биологически недоступным для усвоения. Хитозан обладает также способнос-

тью стимулювати ріст бифідобактерій — корисної кишечної флори. Доказані його протипухлинні властивості. Хітозан знизить рівень холестерину в крові, покращує загальну функцію роботи кишечника, має антацидні та протипухлинні дії, збільшує біологічну доступність кальцію в організмі і сприяє його засвоєнню.

Таким чином, проведені нами дослідження і літературні дані підтверджують той факт, що креветки представляють великий інтерес для культивування і виготовлення не тільки корисних харчових продуктів, але і засобів лікування з них лікувально-профілактичних препаратів широкого профілю.

ФЛУОРЕСЦЕНТНІ НАНОКЛАСТЕРИ НА ОСНОВІ СРІБЛА, ТІОФЛАВІНУ ТА АЛЬБУМІНУ

КАНЮК М. І., НАЗАРЕНКО В. І., ДЕМЧЕНКО О. П.

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: mik_k@ukr.net*

Однією з найактуальніших задач у нанотехнології є створення багатфункціональних наноконструкцій, які б поєднували механічні, оптичні, магнітні та інші властивості поряд із властивістю утворювати специфічні міжмолекулярні взаємодії і давати можливість реєструвати такі взаємодії одним із найчутливіших методів, яким є флуоресценція. Метою нашого дослідження було створення таких молекулярних і наносистем, які б давали найінформативнішу відповідь, з наступною розробкою на їхній базі нових флуоресцентних сенсорних технологій із широким колом застосувань. Одним з авторів роботи проведено узагальнений аналіз літератури щодо флуоресцентних сенсорних технологій, результати якого опрацьовані і видані у вигляді монографії (об'ємом 580 сторінок) видавництвом Springer verlag у 2009 р. Належне місце в сенсорних технологіях займають квантові точки. Ці напівпровідникові наночастинки характеризуються надто високою яскравістю, дуже широкою смугою збудження і вузьким спектром флуоресценції, положення якого визначається розміром наночастинок. До перспективних випромінювачів належать й люмінесцентні комплекси металів та кон'югованих полімерів. У цьому плані водорозчинні флуоресцентні наноконструкції благородних металів являють великий інтерес для дослідників. Нами розроблено методику одержання гібридних нанокластерів, складених із срібла та тіофлавіна, які мають яскраве світіння та характеризуються фотостабільністю. Для стабілізації їх використовували поліелектроліти (поліаліламін), а також альбумін. Нанокластери із срібла, тіофлавіну та альбуміну стійкі в часі при кімнатній температурі та резистентні до фотознебарвлення. Можливе використання як самих нанокластерів із срібла та тіофлавіну, так і гібридних конструкцій останніх із поліелектролітами та іншими полімерами і біомолекулами. Розглядається можливість використання одержаних сполук для біохімічних і цитологічних досліджень як маркерів та застосування їх у медичній практиці.

АЕРОЗОЛІ НА ОСНОВІ НАНОЧАСТИНОК ТЕХНОГЕННОГО ПОХОДЖЕННЯ ТА ЇХНІЙ ВПЛИВ НА ЕКОЛОГІЮ УРБАНІЗОВАНОГО ДОВКІЛЛЯ

КАРПОВ О. В., ВЕРЬОВКА С. В.

*Національний університет харчових технологій МОН України, Київ;
ДУ «Інститут отоларингології ім. О. С. Коломійченка
АМН України», Київ;
e-mail: karpov_avt@hotmail.com*

Постійне зростання впливу урбанізованого навколишнього середовища призводить до перевантаження захисних систем організму, стрімкого падіння опірності найрізноманітнішим несприятливим чинникам, масовому розповсюдженню захворювань, до недавнього часу вкрай рідкісних. Характерною рисою сучасного техногенного оточення є формування аерозолів на основі наночастинок, утворених внаслідок механічного тертя найрізноманітніших машин та механізмів. Зокрема, в умовах сучасних мегаполісів та великих міст різко зростає вплив автотранспорту, що перетворюється на один із ключових забруднювачів довкілля. При цьому до недавнього часу поза увагою лишався вплив нано- та мікрочастинок, утворених внаслідок механічного стирання шин та дорожнього покриття.

Мета роботи полягала у проведенні електронно-мікроскопічного дослідження типових для автотранспорту поверхонь механічного зносу, параметрів фрагментації та попередній оцінці зумовлених нею наслідків. Як впливає з одержаних даних, поверхня шин різного виробництва та ступеня амортизації являє собою чи не ідеальне джерело нанорозмірних частинок. Враховуючи притаманні наночастинкам особливості, можна впевнено говорити про вагомий внесок їх у забруднення урбанізованої біосфери. Висока питома поверхня наночастинок забезпечує формування практично неосідаючих аерозолей, тоді як біологічний захисний бар'єр «повітря — кров» для мікро- та наночастинок розміром менше за 5 мкм не є перепорою. Через високу питому поверхню наночастинок різко зростає значення хімічних реакцій, що відбуваються на рівні мономолекулярного поверхневого шару. Зокрема, контакт наночастинок з протеїнами крові призводить до утворення поверхневого шару денатурованого та стабілізованого в денатурованому стані протеїну, що призводить до зростання навантаження на захисні системи організму внаслідок формування автоімунної реакції на власні протеїни крові та порушення нормального функціонування різноманітних регуляторних систем. Розглядаються молекулярні механізми взаємодії протеїнів із різними за хімічно техногенними наночастинками, обговорюються можливі функціональні наслідки нанозабруднення довкілля.

INTERACTION OF INORGANIC NANOPARTICLES WITH NERVE TERMINALS

^{1,2}KASATKINA L., ¹KRISANOVA N., ¹SIVKO R.,
¹CHUNIKHIN A., ³SLENZKA K., ¹BORISOVA T.

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

²*Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;*

³*Jacobs-University, Bremen, Germany;*

E-mail: tborisov@biochem.kiev.ua

Cell targeting with nanoparticles raises a growing interest in the fields of both cellular biology and medicine. The study focused on the effects of inorganic magnetic nanoparticles (JSC-1a Lunar Soil Simulant (LSS) (Orbital Technologies Corporation, Madison, USA)) on rat brain nerve terminals (synaptosomes). It is important that the components of lunar soil may be internalized by lipid fractions of the lung epithelium. Using Zeta-Sizer-3 (Malvern Instruments) with helium-neon laser for dynamic light scattering (DLS), we assessed the size of LSS nanoparticles that was equal to $2.05 \pm 0.09 \mu\text{m}$. The mean size of the population of nerve terminals was increased after the addition of LSS from $3.3 \pm 0.5 \mu\text{m}$ in control to $5.16 \pm 0.7 \mu\text{m}$ in the presence of LSS (2.5 mg/ml).

Flow cytometric analysis showed that the incubation of synaptosomes with LSS resulted in an upper shift of synaptosomal spot in histograms presenting cell size (FS) and granularity (SS) as x and y coordinates, thereby demonstrating apparent increase in synaptosomal granularity. An analysis of control synaptosomes did not reveal the alterations in their size and granularity during the same incubation period. LSS scatter *per se* did not cover the area of synaptosomes in a histogram.

The presence of LSS in the incubation media did not cause changes in the plasma membrane potential and the proton gradient of synaptic vesicles that was shown with the potential-sensitive fluorescent dye rhodamine 6G and the pH-sensitive dye acridine orange, respectively. LSS did not influence synaptosomal Na^+ -dependent uptake of L-[^{14}C]glutamate mediated by glutamate transporters. However, LSS significantly increased unspecific sorption of L-[^{14}C]glutamate by synaptosomes that was measured in low $[\text{Na}^+]$ media.

Thus, we report that inorganic nanoparticles of LSS bind to nerve terminals that can be used in neurotechnology for medical imaging and possibly for the modulation of active transport of neurotransmitters in nerve terminals.

НАНОБІОКОМПОЗИТИ З АМІНОЦУКРАМИ ЯК КОМПОНЕНТИ КРІОСЕРЕДОВИЩА В БІОТЕХНОЛОГІЇ ЗБЕРІГАННЯ ГЕНОФОНДУ

КЛИМЕНКО Н. Ю., НОВІКОВА О. А., ГАЛАГАН Н. П.

*Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України, Київ;
e-mail: nklymenko@ukr.net*

Нанобіокомпозити (НБК) з високодисперсним кремнеземом (ВДК) та деякими біомолекулами можна використовувати як домішки до стандартних кріосередовищ у біотехнології зберігання генофонду сільгосптварин, що підвищує життєздатність гамет після їхньої деконсервації.

Методом нековалентної іммобілізації створено 4 біологічно активних НБК на основі аміноцукрів (N-ацетил-D-глюкозамін, D-галактозамін) та ВДК, до та після закріплення на його поверхні протеїну бичачого сироваткового альбуміну (БСА). Структуру поверхневого шару НБК вивчено за параметрами адсорбції, ІЧ-спектроскопією та температурно-програмованою мас-спектрометрією. Встановлена залежність біологічної активності їх від хімічних особливостей поверхні НБК та концентрації їх як домішки до стандартного ЛГЖ-кріосередовища з деконсервованими гаметами биків. Методом лазерно-доплерівської спектроскопії на апаратному комплексі «Spectrolas» (Україна) визначено, що за наявності БСА в НБК параметри руху клітин значно зменшуються залежно від природи аміноцукру. Одержані НБК перспективні для оптимізації ЛГЖ-кріосередовища на стадії деконсервації гамет.

ЕНЗИМАТИЧНА АКТИВНІСТЬ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ КРОВІ ПРУДКОЇ ЯЩІРКИ *Lacerta agilis* L. В УМОВАХ КОМПЛЕКСНОГО ЗАБРУДНЕННЯ

КЛИМЕНКО О. Ю., ГАСО В. Я.

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: Klimentko_helen@ukr.net*

Пошук оптимальних біохімічних параметрів для екологічного моніторингу, які б представляли наукову цінність і були доступними для широкого застосування, йде постійно. Високий рівень утворення супероксидних радикалів може спричинювати загибель організму. Активність супероксиддисмутази (СОД) активується в різних стресових ситуаціях, у тому числі й у разі токсичного впливу. На активність ензимів антиоксидантної системи (АОС) впливає широкий спектр забруднювачів — від важких металів до органічних екотоксикантів. З огляду на універсальність відгуку АОС організмів на різні забруднювачі, його показники можна застосовувати для контролю стану популяцій та екосистем.

Об'єктом дослідження було обрано плазунів, оскільки їм властива висока реагентність на вплив негативних чинників навколишнього середовища. Ящірка прудка *L. agilis* L. є фоновим видом плазунів центрального степового Придніпров'я

та України. Для досліджень використовували дорослих статевозрілих особин з довжиною тіла 54–90 мм. Тварин відбирали маршрутним методом. Матеріал, наданий у роботі було відібрано в «умовно чистих» біогеоценозах (Міжнародний біосферний Присамарський стаціонар ім. О. Л. Бельгарда, Новомосковський район), в зоні інтенсивного забруднення відходами Дніпродзержинського металургійного комбінату (м. Дніпродзержинськ) та в зоні лісової рекультивації кам'яновугільних шахт Західного Донбасу (м. Павлоград). Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за мірою пригнічення відновлення нітросинього тетразолієвого у присутності NADH та феназинметіасульфату (ФМС). Інтенсивність забарвлення вимірювали за довжини хвилі 540 нм.

У особин з «умовно чистого» регіону активність СОД у крові складає $15,13 \pm 2,03$ у. о. Значне збільшення активності СОД було зареєстроване в крові ящірок із зони лісової рекультивації шахтних відвалів Західного Донбасу (м. Павлоград), а також у зоні промислового забруднення (м. Дніпродзержинськ) — $19,05 \pm 2,0$ та $18,05 \pm 1,40$ у. о. відповідно, що може свідчити про стрес, який зазнають представники цього класу в районах дослідження. Все вищевикладене дозволяє зробити висновок про те, що тривалий вплив промислового забруднення в зоні мешкання збільшує активність СОД у крові *L. agilis*. Отже, збільшення активності СОД у крові може значною мірою відбивати техногенне навантаження на біогеоценози. Зміна активності СОД може відображати дію механізмів, які спричиняють патологічні зміни під впливом токсикантів промислових підприємств.

БИОИНДИКАЦИЯ СЫВОРОТОЧНОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНОГО БИОСЕНСОРА У БОЛЬНЫХ С КРИТИЧЕСКИМИ СОСТОЯНИЯМИ

¹КЛИМОВА Е. М., ²ЛАВИНСКАЯ Е. В., ²БОЖКОВ А. И.

¹ГУ «Институт общей и неотложной хирургии» АМН Украины, Харьков;

²НИИ биологии Харьковского национального университета
им. В. Н. Каразина, Украина;
e-mail: lavinskaya_5@mail.ru

Для скрининга потенциальной цитотоксичности веществ может быть использован метод клеточной биоиндикации, который заключается в том, что оценивают изменение морфо-функциональных параметров клеток под действием цитотоксических сывороточных факторов. Цель работы — биоиндикация цитотоксичности с использованием клеточного биосенсора *Dunaliella viridis* и последующая оценка показателей гуморального иммунитета в патологических сыворотках крови.

Эксперименты проводились на патологических сыворотках крови, полученных от больных с острыми варикотромбозами, миастенией и билиарным циррозом. В качестве контрольной группы сравнения использовали сыворотку здоровых доноров. Оценку цитотоксичности проводили, используя клеточный биосенсор *D. viridis* (Климова и др., 2009 г.) с последующим расчетом коэффициентов индуцированной цитотоксичности. Концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК)

и пептидов средней молекулярной массы (ПСММ), определяли спектрофотометрическим методом.

В результате проведенных исследований выявили достоверное увеличение коэффициента индуцированной сывороточной цитотоксичности в патологических сыворотках по сравнению с контрольным значением (сыворотка здоровых доноров) $K_{\text{ц}} = 0,57 \pm 0,4$. Установлено увеличение коэффициента индуцированной цитотоксичности в 23 и в 19 раз в сыворотках с билиарным циррозом и миастенией соответственно. В патологических сыворотках, полученных от больных с острыми варикотромбозами данный показатель превышает контрольное значение в 10 раз. Высокий коэффициент цитотоксичности в исследуемых патологических сыворотках сопровождается увеличением концентрации ПСММ в 1,5 раза и повышенной концентрацией ЦИК (в среднем на 20%).

Таким образом, биоиндикация цитотоксичности в патологических сыворотках позволяет рассчитать интегральные коэффициенты, которые можно рассматривать как показатель степени цитотоксичности исследуемой биологической жидкости.

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ СЕСКВІТЕРПЕНОВОГО ЛАКТОНУ З ПЛОДОВИХ ТІЛ *Lactarius pergamenus*

¹КЛЮЧІВСЬКА О. Ю., ²ПАНЧАК Л. В., ^{3,4}ЦИВІНСЬКА М. В.,
^{1,3}СТОЙКА Р. С., ^{1,2}АНТОНЮК В. О.

¹Інститут біології клітини НАН України, Львів;

²Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;

³Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;

⁴Науково-дослідний експертно-криміналістичний центр
при УМВС України у Львівській області;
e-mail: icb17752004@mail.ru

Сесквітерпени молочного соку грибів роду *Lactarius* забезпечують хімічну систему захисту проти бактерій, грибків, тварин і комах. Мета дослідження — провести фракціонування метанольного екстракту висушених плодових тіл *Lactarius pergamenus* органічними розчинниками і вивчити антипроліферативну активність одержаних фракцій.

Екстраговану гексаном 1-у фракцію піддавали хроматографії на силікагелі з послідовною зміною систем елюції: *n*-гексан → гексан-етилацетат 7,5:1 → гексан-етилацетат-метанол 4:2:1 → ізопропанол → метанол. Одержано 6 підфракцій, які позначено 1.1.→1.6. Кількісно переважали підфракції 1.3 і 1.4, які виявилися цитопатично найактивнішими, діючи в дозах >1 мкг/мл. Підфракції 1.1. і 1.2, елюйовані *n*-гексаном, виявляють низьку цитостатичну дію в дозах >5 мкг/мл. Цитотоксичний вплив підфракцій 1.4–1.6 виявляється після розчинення їх у диметилсульфоксиді і значно слабше у разі їхнього розчинення в етанолі. Зміна розчинника не впливає на рівень цитотоксичності фракції 1.3. Для всіх підфракцій виражені цитопатичні ефекти розвиваються через 48 годин з початку їхньої дії. Хроматографією на силі-

кагелі з фракції 1.3 виділено в чистому виді сесквітерпеновий лактон, який складав $\approx 10\%$ початкової підфракції. Біотестування, сесквітерпенового лактону, проведене паралельно з алантолактоном з *I. helenium* на клітинах лінії L1210 лейкемії миші, показало, що біологічна дія сесквітерпену з *L. pergamenus* виявляється через 8 год за дози 5 мкг/мл і вище. Через 24 год його дія посилюється і проявляється в концентрації 0,5 мкг/мл і вище. У цілому, вплив сесквітерпену з *L. pergamenus* протягом перших 5 діб дії в концентраціях 0,5–5 мкг/мл можна класифікувати як цитостатичний. За вищих доз і у разі тривалішого часу дії переважає токсичний вплив. Алантолактон з *I. helenium* діє на 4-у годину від початку досліду (мінім. діюча конц. – 0,1 мкг/мл). На 24-у год токсичний ефект досягає максимуму (мінім. діюча конц. $\approx 0,05$ мкг/мл).

Сесквітерпенові сполуки плодів грибів роду *Lactarius* є перспективними для подальших досліджень щодо їх антинеопластичної дії.

ПЕРОКСИДНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ПЕРЕПЕЛІВ І ВПЛИВ ЙОГО НА ЇХНЮ ПРОДУКТИВНІСТЬ

КОНОНСЬКИЙ О. І., СЕНИК С. В., ЦЕХМІСТРЕНКО О. С.,
ЄСЬМАН Д. В.

Білоцерківський національний аграрний університет, Україна;
e-mail: Tsekhmistrenko@rambler.ru

Ліпіди складають в середньому 10,5% живої маси організму. Вони виконують низку важливих функцій – енергетичну, структурну, метаболічну, є джерелом ендогенної води тощо. Під дією факторів зовнішнього і внутрішнього середовища ліпіди піддаються пероксидному окисленню, внаслідок чого у клітинах і тканинах утворюються речовини (пероксид гідрогену, перокси кислоти, гідроперокси, ацилперокси, вільні радикали тощо), присутність яких призводить до порушень процесів регенерації клітин і тканин, виникнення незворотних змін в них, уповільнення росту та розвитку організму, зниження продуктивності та загибелі птиці.

Вивчалися показники пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в органах перепелів (нирки, шлунок, яєчник). У ході досліджень підбирались речовини та лікарські препарати, які стимулювали діяльність антиоксидантної системи, нейтралізували токсичні продукти, сприяли підвищенню продуктивності та поліпшенню якості продукції перепелів. Щодо основних із них розроблені рекомендації для виробництва, затверджені Міністерством аграрної політики України.

Включення в раціон перепелів 0,15 мг/кг селену у складі селеніту натрію чи «Сел-Плексу» забезпечує збереження поголів'я на 7–8% і приріст живої маси тіла на 7,9–13,6%. При цьому в нирках знижується вміст гідропероксидів ліпідів на 14,5–21,9%, дієнових кон'югатів – на 7–11%, ТБК-активних продуктів – на 18,1%. Водночас активність каталази зростає на 17,0–45,5%, супероксиддисмутази (СОД) – у 1,8–2,5 рази; проте знижується активність глутатіонпероксидази (ГПО) на 15,7–45,5%, глутатіонредуктази (ГР) – на 2,3–14,7% та вміст церулоплазміну – на 6–40%. Введення в раціон 300 мг/кг корму вітаміну Е сприяє зростанню в яєчниках перепелів активності СОД порівняно з контролем у 1,3 рази, каталази – в 3,3

раза, ГР — у 1,3 раза, вмісту вітаміну Е в жовтку яєць в 2,9 раза. При цьому відбувається зростання добових приростів птиці на 9,2%, збереження поголів'я — на 5%, яєчної продуктивності — на 3,8%. Добавка до основного раціону етанолової настойки чистотілу в дозі 0,07 мл/кг маси тіла підвищує м'ясну продуктивність на 1,5%, яєчну — на 14,5%. При цьому у шлунках перепелів збільшується активність каталази на 10,4–89,0%, СОД — на 5,8–61,0% та вміст церулоплазміну на 3,3–4,7%.

Використання біологічно активних речовин та препаратів дозволяє зменшити собівартість одержуваної продукції, покращити ріст та розвиток організму, стимулювати стійкість до різноманітних захворювань, збільшити виводимість та збереженість поголів'я птиці.

2-АРИЛІДЕН-[1,3]ТІАЗОЛО[3,2-а]БЕНЗІМІДАЗОЛ-3(2Н)-ОНИ ЯК ІНГІБІТОРИ ДНК-ЗАЛЕЖНОЇ РНК-ПОЛІМЕРАЗИ ФАГА T7

*КОСТЕНКО О. М., КРИВОРОТЕНКО Д. В., НЕГРУЦЬКА В. В.,
ПАЛЬЧИКОВСЬКА Л. Г., АЛЕКСЄЄВА І. В., ШВЕД А. Д.,
ДУБЕЙ І. Я.*

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ;
e-mail: alkost@ukr.net*

Метою роботи був пошук біологічно активних речовин у ряду похідних тіазолілбензімідазолону в системі транскрипції *in vitro* з використанням ДНК-залежної РНК-полімерази бактеріофага T7 (РНКП T7).

Синтезували серію 2-ариліден-[1,3]тіазоло[3,2-а]бензімідазол-3(2Н)-онів (31 сполука). У положення С-2 тіазолобензімідазолону вводили різні арильні (фенільна група з гідрокси-, алкокси-, діалкіламіно- та галоїдними замісниками) та гетарильні (тіазоліл, піридил) фрагменти.

Для первинного скринінгу органічних сполук з метою визначення їхніх інгібіторних властивостей використовують модельні ензимні системи, одна з яких РНКП T7. Вибір нами саме цього ензиму для скринінгу одержаних сполук зумовлений його доступністю та операційною стабільністю; просторова структура активного центру РНКП T7 подібна до структури β-субодиниць навіть еволюційно далеких РНК- і ДНК-полімераз. Інгібітори РНКП T7 виявляють протівірусну, протимікробну та протипухлинну дію.

Спочатку було перевірено інгібуючу активність усіх речовин у концентрації 25 мкг/мл і виявлено шість сполук, які повністю пригнічують синтез РНК в цих умовах. Їхні структури містили фрагменти 3,4-метилендіоксофеніл, 3- та 4-гідроксифеніл, 3,4-дигідроксифеніл, 4-диметиламінофеніл і 2-тіазоліл. Активність відібраних речовин дослідили в менших концентраціях (1–25 мкг/мл). Значення IC_{50} для них становить відповідно $1,0 \times 10^{-5}$, $2,2 \times 10^{-5}$, $2,7 \times 10^{-5}$, $1,6 \times 10^{-6}$, $1,2 \times 10^{-5}$ та $9,8 \times 10^{-6}$ М. Всі значення одержано внаслідок проведення 5 незалежних експериментів, стандартна похибка не перевищує 5%.

Аналіз даних щодо залежності структура–активність вказує на те, що ключовим фактором є присутність в *n*- (також в *o*-) положенні ариліденового фрагмен-

та групи ОН чи NAlk_2 . У структурі найактивнішої сполуки присутні як *o*-, так і *n*-гідроксильна група.

Таким чином, внаслідок скринінгу знайдено групу похідних тiazолілбензімідазолону, що інгібують РНКП Т7 в мікромолярних концентраціях, причому одна з речовин особливо активна (IC_{50} 1,6 мкМ). На нашу думку, така активність зазначених сполук у модельній системі транскрипції *in vitro* дає підстави для тестування їх як противірусних, протимікробних та протипухлинних препаратів.

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМ КОНТРОЛЕ ИНФЕКЦИОННОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ. АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ГРИППОМ А (H1N1) sw1 A/California/4/2009-like В КРЫМУ

*КРОВЯКОВА М. Т., ПЕНЬКОВСКАЯ Н. А., ПРОКОПЕНКО Т. Г.,
ЯРЕМЧУК А. В., МАЛЫЙ К. Д.*

*Крымская республиканская санитарно-эпидемиологическая станция,
Крымский государственный медицинский университет
им. С. И. Георгиевского, Симферополь, Украина;
e-mail: kdmaly@mail.ru*

Сопоставление эпидемиологических данных с результатами молекулярно-генетических методов исследования, в частности метода ПЦР, представляется важным фактором в диагностике инфекционной патологии. В данном исследовании метод ПЦР применен для анализа заболеваемости пандемическим гриппом А (H1N1) (sw1 A/California/4/2009-like) в Крыму осенью—зимой 2009—2010 гг.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ определялось присутствие фрагментов гена М-протеина и гена гемагглютинина. В качестве внутреннего контроля проводилось определение присутствия РНК гена RNaseP. Исследование проводилось в режиме реального времени с использованием детектирующего амплификатора iQ5 (BioRad, США). Синтез праймеров и гидролизующих зондов с флуоресцентными метками осуществлен фирмой Biosearch (США). Выделение РНК, синтез кДНК и проведение собственно ПЦР в режиме реального времени проводились в соответствии с протоколами МЗО Украины. Валидизация результатов осуществлялась в вирусологической лаборатории Центральной СЭС, г. Киев.

Исследованию подвергались образцы, поступившие по направлению врачей инфекционных стационаров (из отделений реанимации и палат интенсивной терапии), а также секционный материал.

Всего исследованы образцы от 126 лиц, из них 78 носоглоточных смывов и 48 образцов секционного материала. Геном вируса гриппа А обнаружен в 61 образце (48,4% от общего числа поступивших образцов). Из них в 14 случаях (23% от числа положительных образцов) регистрировался только ген М-протеина (сезонный грипп А). В остальных 47 случаях (77% от общего количества положительных образцов) регистрировалось присутствие РНК вирусов пандемического свиного гриппа А (H1N1).

Из исследованных 48 образцов секционного материала в 29 случаях регистрировалось присутствие вируса гриппа А (60,4% от общего количества). Из этого количества в 21 случае (72% от количества положительных секционных образцов) зарегистрировано присутствие РНК вируса пандемического свиного гриппа А (H1N1), в остальных 7 случаях (28%) регистрировался только ген М-протеина (сезонный грипп А).

Геном вирусов гриппа А, как сезонного, так и пандемического свиного H1N1, регистрировался в 12 административно-территориальных регионах АР Крым, в период с 31 октября 2009 года по 10 января 2010 года, с максимальным подъемом во второй половине ноября — декабре 2009 г. Сопоставление частоты выявления вируса гриппа с кривой заболеваемости ОРВИ показывает близкое, но не полное соответствие этих двух показателей, что говорит о том, что заболеваемость гриппом обуславливает лишь часть заболеваемости ОРВИ, а также свидетельствует о важности выявления возбудителя для эпидемиологической оценки заболеваемости.

Таким образом, применение полимеразной цепной реакции позволяет проводить более эффективную диагностику и адекватный эпидемиологический контроль при исследовании заболеваемости гриппом в эпидемиологически опасный период.

APPLICATION OF NOVEL POLYMERIC NANOSCALE CARRIERS FOR INCREASING EFFICIENCY OF ANTICANCER DRUGS

¹KRUPAK V. I., ¹LEHKA L. V., ¹CHUMAK V. V., ²PANCHUK R. R.,
³MITINA N., ³SKOROKHODA T., ³MOSKVIN M., ³ZAICHENKO O.,
⁴HAVRYLYUK D. Ya., ⁴LESYK R. B., ^{1,2}STOIKА R. S.

¹Ivan Franko Lviv National University, Ukraine;

²Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;

³Lviv National Polytechnic University, Ukraine;

⁴Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine;

e-mail: v_krupak@hotmail.com

Successful chemotherapy in cancer patients is often limited by cumulative toxic effect of anticancer drugs towards host organism, and, thus, a complete remission of tumor is rather rare. Immobilization of such drugs on the nanoscale carriers seems to be a perspective approach for increasing drug efficiency and lowering its general toxic action in the treated organism. Thus, the main aim of this study was to investigate if novel oligoelectrolyte polymeric complexes can affect cytotoxic action of anticancer drugs towards tumor cell lines *in vitro*.

We have compared the antineoplastic activity *in vitro* of the doxorubicin (Dx) which is widely used in clinics with such activity of novel synthesized 4-thiazolidone compounds. Human Jurkat and CCRF-CEM T-cell leukemia cell lines, as well as murine L1210 leukemia cells were studied. The antineoplastic activity of doxorubicin-oligoelectrolyte polymeric complexes was shown to be higher than the activity of free Dx. The highest effect of such complexes was observed at low concentrations of Dx (0.1-0.2 µg/ml), while there were no differences in the cytotoxic effects of Dx and Dx-polymer complexes at high

concentrations of Dx (1-2 $\mu\text{g/ml}$). This conclusion was confirmed by the Western blot analysis of the cleaved forms of caspase-3, caspase-7, as well as their substrates PARP-1 and DFF45 in Jurkat T cells.

Novel 4-thiazolidone compounds Les-3120 and Les-3166 were also shown to possess growth inhibiting action towards various mammalian tumor cell lines. However, since these compounds are water insoluble, their anticancer potential is considerably diminished. Application of olygoelectrolyte carriers resulted in preparing water-soluble forms of these drugs with preserving their cytotoxic effect. Thus, the developed nanosized carriers have demonstrated both the ability to increase cytotoxic effect of different anticancer drugs and to improve water solubility of various heterocyclic compounds with potent antineoplastic activity.

This work was partially supported by STCU grant № 4953.

ІНГІБУВАННЯ РНК-ПОЛІМЕРАЗИ T7 3-ГЕТАРИЛКУМАРИНАМИ І 3-ГЕТАРИЛХРОМОНАМИ

КУЗІВ Я. Б., НЕГРУЦЬКА В. В., ПОЛІЩУК О. В., ДУБЕЙ І. Я.

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;
e-mail: ya.b.kuziv@imbg.org.ua*

Метою роботи був первинний скринінг біологічної активності серії похідних кумаринів та хромонів, що містять 3-гетарильний фрагмент. Кумарини та хромони є активними компонентами багатьох лікарських рослин, що проявляють бактерицидну, фунгіцидну, фотосенсибілізуючу та антикоагуляційну дію. Механізм дії цих сполук часто ґрунтується на інгібуванні ДНК- та РНК-полімераз, топоізомераз, теломераз. Серед них виявлено активні протимікробні, противірусні та протипухлинні препарати. Макроструктура молекул 3-гетарил-заміщених кумаринів та хромонів дозволяє припустити, що вони можуть взаємодіяти з нуклеїновими кислотами, полімеразними й топоізомеразними ензимними комплексами.

Для оцінки впливу сполук на синтез РНК *in vitro* було використано відому тест-систему на основі РНК-полімерази бактеріофага T7. Цей невеликий фермент здійснює повний транскрипційний цикл за відсутності додаткових протеїнових факторів, для нього характерні висока швидкість синтезу РНК та специфічність до свого промотора, мінімальна абортівність транскрипції.

Було отримано та протестовано в зазначеній системі серію з 33 кумаринів та хромонів, що містять у положенні С-7 гідрокси-, метокси- чи ацетоксигрупу, а в положенні С-3 фрагмент фурану чи тіазолу з різними замісниками (карбоксильними, карбоксилальними, арильними). Визначали вплив сполук на рівень синтезу РНК полімеразою. ДНК-матрицею служила лінеаризована плазміда pTZ19R зі вставкою 341 п.н., клонованою в сайті Ecl136II. Контрольну реакцію проводили за відсутності інгібіторів.

Під час початкового скринінгу було відібрано 7 найактивніших сполук, для яких визначено величини IC_{90} та IC_{50} . За попередніми даними для 6 із них IC_{90} знаходиться в межах $2,0\text{--}6,4 \times 10^{-5}$ М, а IC_{50} — $1,1\text{--}2,7 \times 10^{-5}$ М. Найактивнішим є 7-меток-

си-3-(карбоксифурил)кумарин, IC_{90} якого становить $9,7 \times 10^{-6}$ М, а IC_{50} — $4,2 \times 10^{-6}$ М. Ця сполука перспективна з точки зору подальшої оптимізації структури.

Таким чином, знайдено ряд 3-гетарилкумаринів з високою інгібуючою активністю щодо РНК-полімерази Т7, які ефективні *in vitro* в мікромолярних концентраціях. При цьому тіазольні похідні в цілому активніші порівняно з фурановими, хоча найефективніший препарат є саме фурильною похідною. Гетарилхромони виявились менш активними за кумаринові аналоги.

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ КСЕНОБІОТИКІВ НА ОРГАНІЗМ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

КУРАС Л. Д., ЛОГАЗА Л. В.

*Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
e-mail: lyubochka876@mail.ru*

Надлишкове надходження аніонів нітриту та солей важких металів внаслідок забрудненості ґрунтів, водойм, повітря і продуктів харчування спричинює порушення забезпечення тканин киснем, про- та антиоксидантної рівноваги, зміни метаболізму. Однак на сьогоднішній день недостатньо вивчені особливості порушень енергетичного обміну в організмі людей та тварин в умовах поєднаної інтоксикації сполуками важких металів та нітритами.

Метою нашого дослідження було вивчення показників периферичної крові та рівня метаболітів вуглеводного обміну в експериментальних тварин в умовах роздільного та поєданого впливу нітриту натрію та хлориду кадмію.

Інтоксикацію моделювали наступним чином: нітрит натрію ($NaNO_2$) вводили з питною водою в дозі $1/10 LD_{50}$, хлорид кадмію ($CdCl_2$) — внутрішньом'язово в дозі $1/10 LD_{50}$. Інтактні тварини отримували відповідну кількість 0,9%-го розчину хлориду натрію. Дослідження проводили на нелінійних щурах-самцях з масою тіла 150–220 г. Забір матеріалу здійснювали згідно з нормами біоетики під легким ефірним наркозом на 1-, 14- і 28-у добу після завершення введення ксенобіотиків. Концентрацію гемоглобіну визначали гемоглобінціанідним методом, гематологічні індекси — загальноприйнятими методами, концентрацію лактату — за реакцією з параоксидифенілом, пірувату — за кількістю похідних 2,4-динітрофенілгідрозону.

Проведені дослідження показали, що в умовах нітритної інтоксикації найістотніші зміни показників периферичної крові спостерігаються на 28-у добу — зниження концентрації гемоглобіну та кисневої ємності крові у 2 рази. За поєднаної дії $NaNO_2$ та $CdCl_2$ відмічено достовірне зниження концентрації гемоглобіну та кисневої ємності крові в 1,9 раза на 14-у добу експерименту. Аналіз одержаних даних вказує на розвиток гіпоксії в пізньому періоді інтоксикації досліджуваними ксенобіотиками. За таких обставин інтерес становить дослідження концентрації метаболітів вуглеводного обміну, як основного джерела енергії для клітин. В умовах нітритної інтоксикації концентрація лактату у крові на 1-у добу зростає в 3,5 раза на фоні зменшення концентрації пірувату в 1,5 раза відносно показників

інтактних тварин. За поєданого впливу токсикантів концентрація лактату у крові зростає в 4,1 раза на фоні зниження концентрації пірувату в 1,4 раза.

Одержані дані свідчать про те, що як кадмієво-нітритна, так і нітритна інтоксикація супроводжується накопиченням лактату у крові експериментальних тварин, що у свою чергу зумовлено розвитком гіпоксії, яка підтверджується гематологічними показниками.

ТЕРМОТОЛЕРАНТНІ ДРІЖДЖІ-САХАРОМІЦЕТИ З ЕВОЛЮЦІЙНОГО КАНЬЙОНУ В ІЗРАЇЛІ

¹КУЦЯБА В. І., ¹КЛЕПАЧ Г. М., ¹ГОНЧАР М. В.,
²НЕВО Е., ¹СИБІРНИЙ А. А.

¹Інститут біології клітини НАН України, Львів;

²Institute of Evolution & University of Haifa, Israel;

e-mail: vasylkutsiaba@yahoo.com

Майже весь етанол у промисловості виробляється біотехнологічно шляхом зброджування цукрів крохмаловмісної сировини та меласи дріжджами *Saccharomyces cerevisiae*. Зростання його виробництва з року в рік обумовлене тим, що біоетанол все ширше використовується як альтернативне джерело енергії. Підвищення термотолерантності, осмо- та етанолрезистентності промислових штамів спиртових дріжджів залишається актуальним на сьогодні, оскільки це дозволяє збільшити їх продуктивність, зменшити затрати на охолодження ферментерів та втрати вуглеводів у процесі бродіння і, таким чином, знизити собівартість біоетанолу.

Нами було проведено скринінг та селекцію термотолерантних штамів дріжджів *S. cerevisiae* серед природних ізолятів з Еволюційного каньйону в Ізраїлі, відомого своїми екстремальними екологічними умовами, та проведено тестування трьох найбільш термотолерантних штамів *S. cerevisiae* за здатністю зброджувати цукри до етанолу при підвищеній температурі. Виявлено термотолерантні штами, які нагромаджували при 40 °C на 30–50% більшу біомасу і виявляли більшу бродильну активність на сахарозі, глюкозі та мальтозі, ніж промисловий штам пекарських дріжджів «Ензим». Показано придатність цих штамів для ферментації таких промислових субстратів як меласа, гідролізати пшеничної соломи та соснової тирси. Один із штамів виявився спирто- та осмотолерантним. При 33 і 37 °C на заводських зразках пшеничного, але не кукурудзяного, сусла, він продукує на 10–15% етанолу більше, ніж промислові спиртові дріжджі раси XII. Одержано диплоїди між термотолерантними штамами та промисловим штамом «Ензим», які також на пшеничному суслі при 33 °C продукують більше етанолу. Проведено модельне бродіння термотолерантними штамами промислового кукурудзяного сусла з дробиною при 30 та 33 °C протягом 4 діб. У зрілій бразі термотолерантних штамів і промислових дріжджів раси XII виявлено однакову кількість етанолу.

Виділені термотолерантні штами можуть бути використані для детальнішого дослідження з метою впровадження їх у спиртове виробництво.

Робота виконана за підтримки НАН України (проект № 17 цільової комплексної програми «Біомаса як паливна сировина» («Біопаливо»).

КИСЛОТНО-ЛУЖНИЙ СТАН КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ НАНОЧАСТИНОК СВИНЦЮ

ЛАЗАРЕНКО І. А., МЕЛЬНИКОВА Н. М., ТКАЧЕНКО Т. А.

Національний університет біоресурсів і природокористування
України, Київ;
e-mail: tkach1982@gmail.com

Розвиток нанотехнологій відбувається на тлі практичної відсутності знань про вплив наночастинок на живий організм. Малий розмір, хімічний склад, структура, значна площа поверхні та форма — це ті властивості, що надають наночастинкам переваг перед іншими матеріалами, а разом з тим зумовлюють й їхній можливий вплив на біологічні системи. Саме тому вивчення біохімічних механізмів впливу наночастинок на організм є надзвичайно актуальним питанням, яке потребує подальшого вивчення. Метою роботи було вивчення кислотно-лужного стану крові щурів за дії наночастинок свинцю.

Дослідження проводили на статевозрілих самцях білих лабораторних щурів з масою тіла 230–250 г. Тварин було розподілено на 3 групи ($n = 8$): 1 група — інтактні щури; 2 група — щури, які отримували свинцю ацетат *per os* у дозі 7 мг/100 г маси тіла тварини; 3 група — щури, які отримували наночастинок свинцю розміром 50 нм *per os* у дозі 7 мг/100 г маси тіла тварини. Тривалість дослідження складала 14 діб. Визначення показників кислотно-лужного стану крові щурів проводили на аналізаторі газів Gastat-601 (Японія).

Результатами проведених досліджень було встановлено, що у щурів, яким вводили свинцю ацетат, значення рН крові зменшується до 7,30 (з 7,35 у інтактних щурів) на фоні зниження рівня PO_2 (на 23,1%) і PCO_2 (на 18,4%), вмісту загального CO_2 (на 16,8%), $[HCO_3^-]$ (на 15,9%) та значення зсуву буферних основ до $-7,48 \pm 0,39$. У щурів, яким перорально вводили наночастинок свинцю, величина рН крові знижується більше — до 7,28, що супроводжується зниженням значення зсуву буферних основ до $-8,63$. При цьому рівень PO_2 і PCO_2 знижується на 24,6 та 19,8%, вміст загального CO_2 на 18,6%, а величина $[HCO_3^-]$ на 20,1% порівняно з інтактними щурами.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що введення щурам свинцю в різних формах зумовлює виникнення метаболічного ацидозу, який має більш виражений характер у тварин, яким вводили наночастинок цього важкого металу.

**ДЕТЕКЦИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И УСТОЙЧИВЫХ
К ИЗОНИАЗИДУ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА**

^{1,2}ЛИМАНСКАЯ О. Ю., ³МУХИНА Т. Н., ³СТЕПАНШИНА В. Н.,
³ШЕМЯКИН И. Г., ¹ЛИМАНСКИЙ А. П.

¹ГУ «Институт микробиологии и иммунологии
им. И. И. Мечникова АМН Украины», Харьков;

²Национальный научный центр «Институт экспериментальной
и клинической ветеринарной медицины» НААН Украины, Харьков;

³ФГУН Государственный научный центр прикладной микробиологии
и биотехнологии, Оболенск, Российская Федерация;
e-mail: olga.limanskaya@mail.ru

Определение спектра лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ) традиционными бактериологическими методами занимает от 1 до 3 месяцев, в течение которых первичным больным назначают курс терапии стандартными противотуберкулезными препаратами первого ряда.

В данной работе разработана технология детекции однонуклеотидных полиморфизмов в кодоне 315 гена *katG* микобактерий туберкулеза, мутации в котором ассоциированы с устойчивостью к препарату первого ряда изониазиду, на основе использования праймеров, содержащих LNA-модифицированные нуклеотиды. Для детекции точечных мутаций в кодоне 315 гена *katG* МБТ разработаны два набора праймеров, каждый из которых содержит по одному LNA-модифицированному праймеру. Оба LNA-модифицированных праймера длиной 17 нуклеотидов (н.) содержат по пять LNA-мономеров: три LNA-мономера комплементарны кодону 315 гена *katG*, а два других фланкируют указанный кодон. Наборы праймеров отличаются локализацией LNA-модифицированного праймера.

Для того, чтобы определить принадлежность клинического изолята МБТ к дикому или мутантному (устойчивому к изониазиду) типу, необходимо провести детекцию 6 вариантов точечных мутаций в кодоне 315 гена *katG* МБТ посредством мультиплексной ПЦР с использованием шести пар праймеров. В то же время использование стандартной ПЦР с LNA-содержащими праймерами позволяет значительно упростить конструирование набора праймеров. В последнем случае достаточно использовать только одну пару праймеров, один из которых содержит 3–5 LNA-нуклеотидов, комплементарных (или фланкирующих и комплементарных) интересующему кодону с мутациями. Эффективность данной молекулярной технологии продемонстрирована с использованием ДНК, экстрагированной из 40 изолятов МБТ дикого и мутантного типов с различным уровнем резистентности к изониазиду.

ХАРАКТЕРИЗАЦІЯ ПРАЙМЕРІВ З LNA-МОНОМЕРАМИ

^{1,2}ЛИМАНСЬКА О. Ю., ³ФЕСЕНКО Т. В.,
³ПОКРОВСЬКИЙ В. О., ¹ЛИМАНСЬКИЙ О. П.

¹ДУ «Інститут мікробіології та імунології
ім. І. І. Мечникова АМН України», Харків;

²Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини» НААН України, Харків;

³Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України, Київ;
e-mail: olga.limanskaya@mail.ru.

Підвищення точності та надійності детекції лікарсько-стійких мікобактерій туберкульозу (МБТ) може бути досягнуто за рахунок поєднання ПЛР та технології, що основана на введенні до складу праймера LNA-модифікованих нуклеотидів. LNA-мономери — це аналоги компонентів нуклеїнових кислот, основною структурною особливістю яких є додатковий метиленовий місток між атомами карбону в положенні 2' та 4' фуранозного кільця, що веде до утворення фіксованої 3'-ендо-конформації цукру.

Для контролю якості хімічного синтезу праймерів з LNA-мономерами (контролю зняття захисту з реакційних груп азотистих основ нуклеотидів, виявлення домішки олігонуклеотидів з відсутніми ланками) застосовували часопрольотну мас-спектрометрію з матричноактивованою лазерною десорбцією та іонізацією (МАЛДІ-мас-спектрометрію). В мас-спектрах праймерів з LNA-мономерами, крім основного піка очікуваної маси, зареєстровано піки меншої маси, які можуть відповідати більш коротким олігонуклеотидам довжиною 15 н. Детекція коротких олігонуклеотидів у МАЛДІ-мас-спектрах пояснює високу інтенсивність неспецифічного амплікона, що утворюється під час проведення ПЛР з LNA-праймерами. Істотним недоліком синтезованих олігонуклеотидів з LNA-мономерами є наявність групи піків замість одного піка очікуваної маси, як це має мати місце у разі коректного синтезу.

Заміна LNA-мономерами трьох нуклеотидів в одному ланцюгу дуплекса веде до значного підвищення температури плавлення дуплекса порівняно з немодифікованим. Два із трьох праймерів з LNA-мономерами, що вивчали, сконструйовано таким чином, що вони є комплементарними один одному та утворюють дуплекс довжиною 17 п.н., для характеристики якого використовували термічну денатурацію. LNA-модифікація п'яти нуклеотидів в обох нитках дуплекса веде до значно сильнішої стабілізації дуплекса (до 88 °C) порівняно з теоретично розрахованим значенням температури плавлення немодифікованого дуплекса (45 °C), ніж можна очікувати, виходячи з теоретичних розрахунків, екстраполюючи дані одониткової LNA-модифікації на випадок LNA-модифікації обох ниток дуплекса.

**DETECTION OF THE POINT MUTATIONS
IN THE *katG* GENE OF ISONIAZID-RESISTANT
*Mycobacteria tuberculosis***

^{1,2}*LIMANSKAYA O. Yu.*, ³*WU X.*, ⁴*ZHANG J.*, ¹*LIMANSKII A. P.*

¹*Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology, Academy
of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov;*

²*National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary
Medicine», National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kharkov;*

³*Institute of Tuberculosis Research, Beijing, China;
e-mail: olga.limanskaya@mail.ru*

The main solving a problem for control of propagation of drug-resistant *Mycobacteria tuberculosis* (MBT) is timely detection for early stages of disease that can allow to correct type of individual chemotherapy for patients.

Isoniazid resistance of MBT is associated with point mutations in the codon 315 of *katG* gene of MBT with probability of 50–90% for different geographical regions. The main goal of the present study is the development of the techniques for detection of the point mutations in the codon 315 of the *katG* gene by the allele-specific PCR.

Allele-specific PCR on the basis of the combination of allele-specific and blocking primers supposes availability besides conventional primer set additional competitive oligonucleotide sequence of which is complementary to strand of wild type DNA template and contains site of potential mutation. Competitive oligonucleotide is blocked at the 3'-end thereby subsequent elongation of wild-type strand becomes impossible and only selective amplification of mutant DNA is occurred. By applying this PCR modification for detection of isoniazid-resistant MBT, blocking DNA polymerase (DNAP) synthesis was performed by primer with 3'-terminal phosphate group that results in the synthesis termination of DNAP.

Two primer sets with additional competitive blocking primer containing 3'-terminal phosphate group (for elimination of unspecific amplification) permit identification of the most frequent point mutations AGC ACC and AGC AGA, AGC→ACA in the codon 315 of *katG* gene. Three types of DNA template with point mutation in codon 315 from *M. tuberculosis* strains were applied for testing primer sets: from HB385 strain with AGC→AGA point mutation, from HB125 strain with AGC→ACC point mutation, H37Rv stain as negative control of amplification.

Designed molecular test-systems for detection of wild type and isoniazid-resistant MBT can be applied in the clinical laboratories with conventional PCR equipment and they allow to decrease period of determination for isoniazid-resistant MBT from 1-3 months by conventional bacteriological methods up to 1-3 days by PCR.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КРИОПРОТЕКТОРОВ НА МЕРИСТЕМЫ ВИНОГРАДА И КАРТОФЕЛЯ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

ЛЫСАК Ю. С., СТИБУЛЬ Т. Ф., КОВАЛЕНКО И. Ф.,
КОМПАНИЕЦ А. М.

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;
e-mail: cryo@online.kharkov.ua*

Исследовано влияние веществ криозащитного действия на меристемы винограда и картофеля путем получения спектров их флуоресценции.

В работе исследованы 0,75 М раствор NaCl, 1 М раствор пропандиола (1,2 ПД), 7%-й раствор поливинилпирролидона (ПВП) и комбинация веществ: 1 М 1,2 ПД + 7%-й ПВП в соотношении 3 : 2.

Меристемы выдерживали в растворах криопротекторов в течение от 1 до 120 мин. Через 1, 3, 5, 20 и 120 минут их подвергали облучению лазером с длиной волны 405 нм для возбуждения в них вторичной электронной эмиссии и снимали спектры флуоресценции.

Спектры свечения всех меристем (и картофеля и винограда) представляют собой кривые с двумя максимумами — в районе 530 и 680 нм. Всплеск флуоресценции в коротковолновой области спектра отражает процессы пероксидного окисления липидов и флавопротеидов. В длинноволновой области — процесс возбуждения электронного транспорта в хлоропластах.

Действие криопротекторов проявилось в изменении интенсивности спектров флуоресценции меристем. Спектральный состав при этом оставался неизменным. Практически все криопротекторы вызывали увеличение интенсивности свечения, особенно в максимумах, которая со временем снижалась. Это свидетельствует о том, что выбранные вещества вызывали в меристемах стресс умеренной напряженности. Исключение составил ПВП. Действие его на меристемы картофеля проявилось в снижении со временем интенсивности флуоресценции во всем интервале длин волн практически до нуля. В дальнейшем действие этого криопротектора привело к гибели меристем картофеля.

Меристемы винограда, по сравнению с меристемами картофеля, оказались более устойчивыми к действию ПВП, но более чувствительными к действию 0,75 М NaCl. Под действием ПВП интенсивность флуоресценции меристем винограда в коротковолновой области спектра вначале возрастала, а к 120 минутам вернулась к исходному уровню. В длинноволновой области спектра флуоресценция усиливалась в течение почти всего промежутка времени наблюдения, но в конце наметилась тенденция к снижению этого показателя, что свидетельствует об обратимости повреждающего влияния этого криопротектора. Действие 0,75 М раствора NaCl на меристемы винограда было аналогично действию ПВП на меристемы картофеля: во всем диапазоне исследуемых длин волн интенсивность флуоресценции в опыте была ниже, чем в контроле, что, по-видимому, может свидетельствовать о необратимом повреждении объекта данным веществом (0,75 М NaCl).

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН МУТАНТА *Streptomyces globisporus* RS1-ч

ЛУТЧЕНКО В. А.

Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, Київ;
e-mail: vlutchenko@serv.imv.kiev.ua

Успішна селекція продуцентів біологічно активних речовин, в тому числі антибіотиків, ґрунтується на можливості спрямованої мінливості вихідної культури за певними ознаками та дослідженні біохімічних властивостей одержаних мутантів. Метою роботи було одержання нових біологічно активних речовин та вивчення їхніх фізико-хімічних і біологічних властивостей. У роботі використовували добре споруючий прототроф із заблокованим синтезом ландоміцину Е варіант *Streptomyces globisporus* RS1.

Частота виділення мутантів у *S. globisporus* RS1 становила 1,0% із 3580 перевірених колоній, що відповідає 36 мутантам, які відрізнялись за здатністю продукувати пігменти на повноцінному соєвому середовищі. У подальшу роботу взяли мутант RS1-ч, що продукує червоно-бордовий пігмент.

На наступних етапах роботи ми перевіряли здатність мутанта синтезувати антибіотичні речовини, активні по відношенню до тест-культур, та здатність до ко-синтезу ландоміцину Е.

Нами було встановлено, що біологічно активні речовини мутанта *S. globisporus* RS1-ч проявляють помірну активність до тестерного штаму *S. levoris* 165, підвищену активність по відношенню до *Brevibacterium aurantiacum* та *Gordonia bronchealis* серед представників актиноміцетів, *Streptococcus faecalis* та *Mycobacterium smegmatis* серед інших бактерій. По відношенню до *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vilgaris*, *Escherichia coli* та *Candida albicans* вони виявились неактивними.

За результатом тесту на косинтез мутант RS1-ч належить до групи LndE- Gsn-, в яких не відновлюється синтез ландоміцину Е за додавання в середовище екзогенного геністеїну.

На наступному етапі роботи біологічно активні речовини мутанта RS1-ч екстрагували з культурального середовища сумішшю хлороформ–ацетон (2 : 1) та розділяли за допомогою тонкошарової хроматографії в системі розчинників бензол–етилацетат–ацетон–етанол (4 : 2 : 1 : 0,5).

Екстраговані біологічно активні речовини було розділено на 5 фракцій. Фракції 2, 3 та 4 з Rf 0,34, 0,45 і 0,58 відповідно виявляли бактеріостатичну дію по відношенню до тестерного штаму *S. lividans* 165, а фракції 1 і 5 з Rf 0,1 та 0,79 відповідно виявляли бактерицидну дію. Зони затримки росту дорівнювали 14 мм для біологічно активної речовини фракції 1 та 10 мм для біологічно активної речовини фракції 5.

Спектроскопічне дослідження біологічно активних речовин фракцій 1 та 5 показало, що перша має піки поглинання при 286, 253 та 231 нм, а друга — при 266 нм в УФ-зоні спектра.

Отже, з культурального середовища мутанта *S. globisporus* RS1-ч виділений антибіотичний комплекс, з якого методами екстракції органічними розчинниками та хроматографією одержані дві антибіотичні фракції, що виявляють близьку активність щодо деяких грампозитивних бактерій.

ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ФАКТОРА ЗСІДАННЯ VII ІЗ СУБФРАКЦІЙ ПЛАЗМИ КРОВІ

МАДИЧ С. Є., ДАНИШ Т. В.

*ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини
АМН України», Львів;
e-mail: sofiam@ukr.net*

Фактор VII (FVII) — серинова протеїназа трипсинового типу, вітамін К-залежний глікопротеїн, що синтезується в печінці. FVII має важливе клінічне значення як маркер ризику виникнення тромбоемболій. Актуальною є проблема одержання препаративної кількості очищеного фактора для терапевтичного застосування.

Джерелом FVII на сьогодні є свіжозаморожена плазма, а також очищені комерційні препарати. Технології одержання FVII є доволі складними, оскільки цей фактор присутній у плазмі в дуже низькій концентрації. Вихідною сировиною для його одержання може також бути концентрат факторів протромбінового комплексу, який одержують шляхом попереднього фракціонування плазми.

Метою роботи було розробити технологію виділення очищеного препарату FVII із фракцій плазми II + III чи III за Коном методом афінної хроматографії з використанням макропористих кремнеземних носіїв та активних тріазинових барвників як лігандів. У досліджах використовували макропористий кремнеземний носій діасорб амінопропіловий, активні тріазинові барвники, ПЕГ-6000. Визначення активності факторів у зразках проводили за допомогою хромогенного пептидного субстрату S-2765 (Chromogenix). Дослідження гомогенності одержаних препаратів проводили шляхом вертикального електрофорезу в тонкому шарі ПААГ у системі Лемлі.

Розробляючи методи виділення очищених вірусінактивованих факторів зсідання крові з використанням афінної хроматографії на кремнеземних носіях із біоспецифічними лігандами, застосовуючи різноманітні барвник-лігандні кремнеземні сорбенти, знаючи відмінності у зв'язуванні та елюції факторів зсідання, нам вдалося створити схему препаративного виділення FVII із субфракцій плазми крові за Коном.

Внаслідок досліджень, ми дійшли висновку, що макропористий носій діасорб амінопропіловий, модифікований активними тріазиновими барвниками, є придатним для виділення та очищення факторів зсідання крові, в тому числі FVII. Одержаний препарат FVII за чистотою та специфічною активністю аналогічний до комерційних препаратів різних виробників. Технологія одержання препарату включає також етапи антивірусної обробки.

**ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕКТРА СЕСКВІЛАКТОНІВ
ЕКСПЛАНТАТІВ *Saussurea discolor* (WILLD) DC.**

МАРЧЕНКО М. М., ШЕЛИФІСТ А. Є., ЧЕБАН Л. М.

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

Сесквітерпенові лактони — група сполук, які характеризуються широким спектром фізико-хімічних властивостей. Їхня різноманітність у межах одного типу залежить від ступеня насиченості кілець, розташування подвійних зв'язків і наявності різних функціональних груп. Така різноякісність значно ускладнює процес виділення та ідентифікації сесквілактонів. Отже, у кожному конкретному випадку існує потреба індивідуального підбору методів та умов виділення досліджуваних сполук.

Метою роботи було охарактеризувати компонентний склад сесквітерпенових лактонів експлантатів *S. discolor* та підібрати умови для найповнішого вилучення їх.

Визначення суми сесквітерпенових лактонів експлантатів *S. discolor* проводили методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту (ТШХ) на пластинках «Силуфол» (Чехія) висхідним способом відповідно до вимог Державної Фармакопеї. Як рухому фазу використовували систему розчинників: петролейний ефір — етилацетат (9 : 1). Проявлення хроматограми здійснювали 1%-им розчином ваніліну у 20%-й H_2SO_4 .

Відомо, що від типу розчинника, який застосовується для екстракції, залежить не тільки повнота вилучення досліджуваних сполук, але й їхній якісний склад. Нами було апробовано різні шляхи екстракції, що відрізнялися як за температурним режимом, так і за екстрагуючою речовиною. Внаслідок тонкошарової хроматографії смолки, одержаної шляхом водної екстракції при 70 °С із наступною обробкою хлороформом, було ідентифіковано чотири компоненти, що за специфічним забарвленням можна віднести до сполук лактонної природи. Однак при застосуванні такої схеми екстракції не враховується втрата лактонів за рахунок їхньої летючості. Тому надалі нами було змінено умови екстракції. При хроматографічному дослідженні препарату, одержаного шляхом п'ятиденної екстракції хлороформом при кімнатній температурі, було додатково виявлено ще шість компонентів. Здатність індивідуальних фракцій поглинати світло при 214 нм дає підстави припустити, що всі вони містять α -метилен- γ -лактонний цикл.

Отже, за умови проведення п'ятиденної екстракції хлороформом при кімнатній температурі із тканин експлантатів *S. discolor* вилучається десять компонентів, що, ймовірно, належать до сесквітерпенових лактонів.

КУЛЬТУРА «БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ» ЦИКОРИЯ С ГЕНОМ ИНТЕРФЕРОНА ЧЕЛОВЕКА

МАТВЕЕВА Н. А., КВАСКО Е. Ю., ШАХОВСКИЙ А. М.,
ГЕРАСИМЕНКО И. М.

*Институт клеточной биологии и генетической
инженерии НАН Украины, Киев;
e-mail: joyna56@gmail.com*

«Бородатые корни», рост которых вызывается *Agrobacterium rhizogenes*, могут быть использованы для продукции биологически активных веществ, поскольку имеют высокую скорость роста, генетически стабильны, часто не отличаются по синтезу метаболитов от интактных растений. Нами ранее были получены растения цикория с геном интерферона, показана активность экстрактов этих растений против вируса везикулярного стоматита. Целью настоящей работы было создание «бородатых корней» цикория с геном интерферона человека.

Семена цикория *Cichorium intybus* L. сорта Пала росса стерилизовали 10 мин в 25%-ом растворе препарата «Белизна», промывали дистиллированной водой 60 мин и проращивали на агаризованной среде MS. Семядоли 7-суточных проростков отделяли, надрезали и инкубировали в течение 30 мин в суспензии *A. rhizogenes* с бинарным вектором pCB161, несущим селективный ген *nptII* и целевой ген интерферона человека (*ifn-α2b*). Экспланты культивировали на среде MS 2 сут., затем переносили на селективную среду с 600 мг/л цефатоксима и 25 мг/л канамицина. Контролем служили нетрансформированные семядоли на безгормональной среде с 25 мг/л канамицина. Геномную ДНК выделяли методом СТАВ. Присутствие трансгенов определяли методом ПЦР с праймерами 5'-cctgaatgaactccaggacgaggca-3', 5'-gctctagatccagagtcctcagaag-3' (ген *nptII*) и 5'-ctcctgcttgaaggacag-3', 5'-ggagtcctccttcacag-3' (ген *ifn-α2b*) согласно описанному нами ранее протоколу.

Через 14 сут. на 24% эксплантов наблюдали образование корней. Их отделяли и субкультивировали далее на безгормональной среде MS с антибиотиками. На эксплантах, которые не подвергали инокуляции бактериями, корни не формировались. Полученные после трансформации корни имели такие характерные черты как гормонезависимость роста, интенсивное ветвление, отсутствие положительного геотропизма. Выборочный ПЦР-анализ показал, что корни имели как селективный, так и целевой гены.

Таким образом, при использовании *A. rhizogenes* впервые получены трансгенные корни цикория *C. intybus* с геном *ifn-α2b* интерферона человека. Частота образования корней, растущих *in vitro* в отсутствии фитогормонов, составила 24%. Все анализированные корни имели как селективный, так и целевой ген.

***Bacillus* sp. – ПРОДУЦЕНТ
ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ЕНЗИМІВ**

МАЦЕЛЮХ О. В., ЛЕВІШКО А. С., ВАРБАНЕЦЬ Л. Д.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, Київ;
e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua*

Протеолітичні ензими відіграють ключову роль у регуляторних механізмах обміну людини, тварин і рослин. Протеази, виділені з різних джерел, знайшли широке застосування в різних галузях промисловості і медицини. Особливу увагу дослідників привертають протеолітичні ензими, отримані з мікроорганізмів. Технології одержання таких препаратів більш спрощені і дешевші. Внаслідок скринінгу серед 367 штамів мікроорганізмів було відібрано ефективний продуцент протеолітичних ензимів *Bacillus* sp. Розроблено схему виділення і очистки протеолітичного комплексу з культуральної рідини продуцента, яка включає фракціонування сульфатом амонію, іонообмінну хроматографію та гель-фільтрацію на Toyopearl DEAE-650 (M) і HW-50, відповідно. Встановлено, що протеолітичний комплекс *Bacillus* sp. представлений нейтральними і лужними протеазами (оптимум рН при 6,0-8,0 і 10,0), які гідролізують ряд протеїнових субстратів: казеїн, желатин, гемоглобін, колаген, фібрин та еластин. Внаслідок очистки виділено два протеолітичних комплекси з домінуючою фібринолітичною та еластазною активністю, молекулярна маса яких складала 28,7 та 22,7 кДа. Показано, що отримані ензимні препарати належать до протеаз серинового типу, для прояву активності яких необхідні іони металів. Для підвищення активності ензимів існує ряд засобів, які включають оптимізацію складу поживного середовища, умов культивування продуцентів, застосування індукторів синтезу ензимів, а також використання методів селекції і генної інженерії. Проведено хімічний мутагенез штаму *Bacillus* sp. за допомогою N-метил-N-нітрозогуанідину. Ознака підвищеної еластазної активності виявилася у 2,1% з 1000 досліджених мутантних варіантів, а залишилася стабільною протягом 6 місяців лише у 7 варіантів. Рівень еластазної активності у відібраних варіантів був підвищений на 31–100% у порівнянні з вихідною культурою. Встановлено, що один з отриманих мутантів *Bacillus* sp. (88м) відрізняється від вихідної культури за динамікою синтезу ензимів і за такими фізико-хімічними показниками, як залежність активності ензимного комплексу від кислотності середовища і температури. Показано, що мутант синтезує лише одну серинову протеазу з еластолітичною дією, що має молекулярну масу 28,7 кДа, внаслідок цього синтез ензиму збільшується вдвічі у порівнянні з батьківським штамом.

КАТАЛАЗНА АКТИВНІСТЬ У НИРКАХ ЩУРІВ В УМОВАХ ЗМІНЕНОГО ФОТОПЕРІОДУ ТА ДІЇ ТЕТРАХЛОРЕТАНУ

МАЦЬОПА І. В., ГРИГОР'ЄВА Н. П., МЕЩИШЕН І. Ф.

*Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна;
e-mail: ihorlop73@mail.ru*

Ензими антиоксидантної системи беруть участь у знешкодженні активних форм кисню, які інтенсивно утворюються за дії на організм різних ксенобіотиків та факторів навколишнього середовища.

Метою дослідження було встановити особливості змін каталазної активності в нирках щурів за дії тетрахлорметану в умовах різних світлових режимів.

Дослідження проведено на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою з масою тіла 180 ± 10 г. Тварин утримували протягом 7 днів в умовах 12 годин світла та 12 годин темряви (експериментальне рівнодення), постійної темряви та тривалого освітлення (інтенсивність освітлення 1500 лк). За таких світлових умов проводили інтоксикацію тварин 50%-им олійним розчином тетрахлоретану шляхом дворазового введення з інтервалом в один день (у дозі 0,25 мл/100 г маси тіла). У пост'ядерних супернатантах нирок визначали каталазну активність.

Перебування тварин в умовах як постійної темряви, так і тривалого освітлення порівняно з показником, одержаним за експериментального рівнодення, у нирках щурів призводить до зміни каталазної активності. Так, у щурів, що знаходилися в умовах постійної темряви, ензиматична активність у нирках зростає на 25% ($165,7 \pm 9,90$ нмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв}$ на 1 мг протеїну) і тривалого освітлення — на 24% ($231,1 \pm 18,40$ нмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв}$ на 1 мг протеїну) порівняно з відповідним показником, одержаним за експериментального рівнодення ($165,7 \pm 9,90$ нмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв}$ на 1 мг протеїну).

Дія хімічного чинника — тетрахлорметану — на фоні різних світлових режимів призводить до різкого зниження каталазної активності в нирках щурів. Так, за всіх умов освітлення в нирках щурів, інтоксикованих тетрахлорметаном, спостерігається зниження каталазної активності (в середньому на 45%) порівняно з контролем.

Внаслідок досліджень дійшли висновку: за екстремальних умов освітлення на фоні експериментального рівнодення в нирках щурів як адаптивна відповідь зростає активність одного з ензимів антиоксидантного захисту — каталази. Токсичне ураження тварин тетрахлорметаном незалежно від умов освітлення пригнічує активність ензиму в нирках щурів у середньому на 45% порівняно з контролем.

ЕРИТРО- І ЛЕЙКОПОЕЗ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ЦЕЗІЮ ХЛОРИДУ

МЕЛЬНИКОВА Н. М., КЛІХ Л. В., ЄРМІШЕВ О. В.

Національний університет біоресурсів і природокористування
України, Київ;
e-mail: magystr_dep@twin.nauu.kiev.ua

Відомо, що іони важких металів активують процеси утворення активних форм кисню в різних типах клітин, провокуючи розвиток в організмі оксидативного стресу. Важливу проблему становить дослідження порушень метаболізму, що виявляються у клітинах крові внаслідок надходження в організм надлишку сполук цезію. Мета роботи — вивчення впливу цього металу на інтенсивність еритро- і лейкопоезу за допомогою аналізу вмісту еритроцитів і лейкоцитів у крові щурів, яким вводили цезію хлорид, та на кисеньтранспортувальну функцію еритроцитів за визначенням концентрації гемоглобіну та його спорідненості з киснем. Для досліджень використали 2 групи молодих самців білих лабораторних щурів, у кожную з яких було відібрано по 7 тварин: перша група — контрольна, інтактні тварини, друга — тварини, отруєні цезію хлоридом у дозі 15,75 мг/кг. Отруєння щурів проводили шляхом введення цезію хлориду *per os* впродовж 20 діб. Матеріалом досліджень була змішана периферична кров, яку отримували після декапітації тварин дослідної і контрольної груп. Кількість клітин крові досліджували за допомогою підрахунку в камері Горяєва.

Введення цезію хлориду зумовлює істотні зміни показників стану кровотворення в щурів, які виявляються щодо еритропоезу та лейкопоезу. Результати досліджень свідчать про збільшення вмісту лейкоцитів у крові щурів дослідної групи на 37,5%. З'ясовано, що впродовж експерименту у крові щурів зменшується загальна кількість еритроцитів на 18,3%, кольоровий показник — на 15,1%, а середній вміст гемоглобіну в еритроцитах виявляє тенденцію до зниження. При анеміях, які розвиваються внаслідок низки захворювань, зменшується число еритроцитів у крові, що спричинює зниження рівня гемоглобіну. Слід також враховувати можливий інгібуючий вплив катіонів цезію на процеси синтезу безпосередніх регуляторів процесів еритропоезу в кістковому мозку, передусім еритропоетину. Водночас вміст еритроцитів у крові щурів може зменшуватись внаслідок прискорення процесів дозрівання еритроїдних клітин у кровообігу, що вказує на погіршення кисеньтранспортувальної функції крові тварин за дії катіонів цезію. У пошкоджених клітинах зростає інтенсивність пероксидного окислення ліпідів, що зумовлює руйнівні процеси у плазматичних мембранах і порушення їхніх функцій. Отже, результати досліджень доводять, що під впливом цезію хлориду пригнічуються процеси утворення еритроїдних клітин та зменшується киснева ємність крові і здатність еритроцитів до транспортування кисню.

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ КІНЦЕВИХ РЕАКЦІЙ ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗУ ЗА ДІЇ ФАКТОРІВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА У ТКАНИНАХ РИБ РІЗНИХ ВИДІВ

МЕХЕД О. Б., КОВАЛЬ В. О., ЯКОВЕНКО Б. В.

Чернігівський національний педагогічний університет
ім. Т. Г. Шевченка, Україна;
e-mail: MekhedOlga@mail.ru

Глюконеогенез — процес, який забезпечує енергетичні потреби риб під час зимівлі. В наш час серед хімічних речовин, які забруднюють водойми, значну небезпеку для водних тварин, у тому числі і риб, виявляють гербіциди, аміак та фенол. Тому метою нашого дослідження було вивчення впливу токсикантів (гербіциду — зенкору, аміаку та фенолу) на ензиматичну активність кінцевих стадій глюконеогенезу у риб родини коропових. Дослідження проводили в лабораторних умовах на дворічках коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) та білого амура (*Stenopharingodon idella* Val.). Кількість риб в експериментальних та контрольній групах становила 5 штук в кожній. Для дослідження використовували тканини білих м'язів спини та печінки. Висновок про активність ензимів (глюкозо-6-фосфатази та фруктозо-1,6-дифосфатази) робили за кількістю утвореного неорганічного фосфату. Вміст протеїну визначали за методом Лоурі і співавт. Результати обробляли статистично за І. А. Ойвіним. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними $P < 0,05$. У разі забруднення водного середовища аміаком збільшується активність фруктозо-1,6-дифосфатази в обох досліджуваних тканинах коропа: у печінці показники становлять $0,35 \pm 0,04$ та $0,64 \pm 0,02$ мкмоль P_i /хв на 1 мг протеїну відповідно у риб контрольної та дослідної груп ($P < 0,001$); у м'язах показники відповідно $0,56 \pm 0,08$ та $0,66 \pm 0,05$ мкмоль P_i /хв на 1 мг протеїну. Подібні тенденції спостерігаються і для глюкозо-6-фосфатази — у білих м'язах активність ензиму в умовах токсикозу зростає практично у 2 рази ($P < 0,02$). За дії фенолу спостерігається пригнічення активності ензимів глюконеогенезу: для фруктозо-1,6-дифосфатази у 4,4 раза в печінці ($P < 0,001$) та майже у 5 разів у білих м'язах. Гербіцидний токсикоз у печінці коропа спричинює значні зміни активності обох досліджуваних ензимів: активність глюкозо-6-фосфатази зменшується в 4 рази ($P < 0,001$), а фруктозо-1,6-дифосфатази — у 2 рази. Одночасно цей процес супроводжується активацією ензимів білих м'язів для глюкозо-6-фосфатази $0,19 \pm 0,01$ мкмоль P_i /хв на 1 мг протеїну в контролі і $0,60 \pm 0,06$ мкмоль P_i /хв на 1 мг протеїну у риб дослідної групи ($P < 0,001$). У білого амура активність глюкозо-6-фосфатази зростає в білих м'язах (у 1,63 раза, $P < 0,05$) за дії зенкору, а у печінці збільшується у 2 рази ($P < 0,01$). Висновок: ензими реакцій глюконеогенезу змінюють свою активність у відповідь на забруднення водного середовища. Ці зміни пов'язані з формуванням термінової та довготривалої адаптації до дії токсикантів в організмі риб.

ВПЛИВ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ВМІСТ ХІМІЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ У ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИНАХ

МІЩЕНКО Л. Т., ДАЩЕНКО А. В., ДУНІЧ А. А.,
ТОКАРЧУК Л. В.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
Національний університет біоресурсів і природокористування
України, Київ;
e-mail: lmishchenko@ukr.net

Здатність лікарських рослин акумулювати важкі метали із зовнішнього середовища вивчається в останнє десятиріччя досить широко і не викликає сумнівів. На сьогодні зовсім мало даних про ступінь переходу металів у медикаментозні форми, що виготовляються із сировини цих рослин. Повідомлення про вплив вірусної інфекції на накопичення важких металів у лікарських рослинах, які вирощуються в Україні, відсутні. Зважаючи на це, необхідним та доцільним є вивчення впливу зазначених патогенів на вміст мікроелементів як однієї із складових нормального фізіологічного стану самих лікарських рослин та лікувальних властивостей їх. Крім того, завдяки таким дослідженням з'являється можливість контролювати вміст токсичних елементів у фітопрепаратах та біологічно активних добавках, які безпосередньо вживаються людиною.

Метою роботи було дослідити вплив вірусної інфекції на вміст мікроелементів у рослинах ехінацеї пурпурової (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.) та лофанту анісового (*Lophanthus anisatus* Benth.).

Морфологію вірусних частинок вивчали методом електронної мікроскопії, JEM 1230 (JEOL, Японія). Ідентифікацію вірусів здійснювали за допомогою твердофазного імуноензимного аналізу (сендвіч-варіант) із використанням комерційних тест-систем фірми LOEWE (Німеччина). Результати реакції реєстрували на рідері Thermo Labsystems Opsis MR. Дослідження вмісту мікроелементів у рослинній сировині проводили методом мас-спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою із використанням ИСП-МС X-Series 2 (Thermo Fisher Scientific). Досліджувані розчини з потоком аргону перетворювались на аерозоль. Через інжектор плазмового пальника аерозоль переходив у плазму, в якій за високої температури (7000-8000 K) елементи проби іонізувались. Позитивно заряджені іони проходили через систему іонної оптики в аналізатор, де проходив відбір іонів по відношенню «маса/заряд». Детектування сфокусованого та оптимізованого за кінетичною енергією потоку іонів проводилося у дискретному електронному помножувачі.

У рослин *E. purpurea* із симптомами жовтої кільцевої плямистості, хлоротичної мозаїки, скручування та шиловидності листової пластинки виявлені сферичні вірусні частинки розміром $29,5 \pm 0,5$ нм та ідентифіковані як вірус огіркової мозаїки (ВОМ). У лофанту анісового із симптомами хлоротичної мозаїки виявлено сферичні віріони діаметром 110 ± 10 нм.

При дослідженні вмісту мікроелементів в інфікованих рослинах ехінацеї пурпурової встановлено, що в них відбувається накопичення металів сурми, заліза (перевищення гранично допустимої концентрації (ГДК) у 2,5 раза) в концентраціях, які є токсичними для людини. Крім того, показано зниження концентрації

необхідних для росту і розвитку рослин елементів молібдену, кобальту, міді, цинку, алюмінію та калію порівняно зі здоровими рослинами.

Результати вивчення елементного складу лофанту анісового показали, що вірусна інфекція суттєво впливає на їхню концентрацію в рослинах. Так, у вірусінфікованих рослинах відмічено перевищення ГДК для металів стронцію, барію, заліза та алюмінію в декілька разів, що робить таку сировину небезпечною для використання, а також збільшення вмісту всіх досліджуваних мікро- та макроелементів.

Отже, одержані нами результати показали, що склад сировини з цих рослин у деяких випадках може бути небезпечним для здоров'я людини. Оскільки дані щодо складу лікувальних препаратів із такої сировини відсутні, то зробити однозначний висновок щодо її безпечності неможливо. Тому дослідження у цьому напрямі слід продовжувати.

ПРОМИСЛОВІ ВІДХОДИ ЯК СУБСТРАТИ ДЛЯ СИНТЕЗУ МІКРОБНИХ СУРФАКТАНТІВ

МОРОЗОВА А. П., ГРИЦЕНКО Н. А.

*Національний університет харчових технологій, Київ, Україна;
e-mail: anmo_july@mail.ru*

Незважаючи на комерційно привабливі властивості мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР, сурфактанти) та значні переваги їх порівняно із синтетичними аналогами, промислове виробництво цієї групи речовин в Україні до теперішнього часу не реалізовано, а факторами, що стримують впровадження технологій мікробних ПАР у світі є високі витрати на біосинтез (сировина, енергетика), виділення та очищення цільового продукту, а також недостатньо висока концентрація синтезованих ПАР.

У попередніх дослідженнях із забруднених нафтою зразків ґрунту і води нами виділено нафтоокислювальні бактерії, ідентифіковані як *Acinetobacter calcoaceticus* K-4, *Nocardia vaccinii* K-8, *Rhodococcus erythropolis* EK-1. Мета роботи — дослідити можливість використання відходів промислових виробництв як ростових субстратів для синтезу ПАР *A. calcoaceticus* K-4, *N. vaccinii* K-8, *R. erythropolis* EK-1.

На теперішній час одним з найперспективніших субстратів для використання у біотехнологічних процесах є гліцерол — побічний продукт, утворюваний у великій кількості за виробництва біодизеля з рослинної і тваринної сировини. Враховуючи хімічний склад ПАР, синтезованих *R. erythropolis* EK-1 (комплекс гліко-, фосфо- і нейтральних ліпідів), *A. calcoaceticus* K-4 (комплекс аміно- і гліколіпідів), *N. vaccinii* K-8 (жирні кислоти), а також можливість підвищення ефективності синтезу мікробних метаболітів у присутності екзогенних попередників (жирних кислот), ми припустили, що потенційним дешевим субстратом для вирощування штамів можуть бути відходи виробництва рослинних олій, що містять у своєму складі жирні кислоти, тригліцероли, фосфатиди.

Показано, що в умовах росту досліджуваних штамів на оліє- та гліцеролвмісних середовищах показники синтезу ПАР не поступаються, а у деяких випадках навіть перевищують у 2—4 рази такі на гексадекані та рідких парафінах (контрольні субстрати).

Отже, внаслідок проведених досліджень встановлено можливість використання гліцеролу — побічного продукту виробництва біодизелю, а також відходів харчових виробництв як субстратів для одержання мікробних поверхнево-активних речовин.

ВИКОРИСТАННЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 ТА *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 У ПРИРОДООХОРОННИХ БІОТЕХНОЛОГІЯХ

МОРОЗОВА А. П., АНТОНЮК С. І.

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна;
e-mail: anto_july@mail.ru

Понад 50% забруднень навколишнього середовища пов'язано з нафтою і продуктами її переробки. Одним із можливих шляхів очищення ґрунтів і води від нафтопродуктів є активація природної мікрофлори забруднених об'єктів. Потужним регулятором активності мікробної популяції, у тому числі й природної, здатної до окислення гідрофобних сполук, є поверхнево-активні речовини (ПАР), зокрема ПАР мікробного походження. Емульгування (солюбілізація) вуглеводнів за допомогою ПАР сприяє транспортуванню гідрофобних речовин із ґрунту і води в мікробні клітини і, таким чином, підвищують їхню здатність до деградації. У попередніх дослідженнях із забрудненого нафтою ґрунту було ізольовано штами бактерій, ідентифіковані як *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 та *Acinetobacter calcoaceticus* К-4. Метою роботи було дослідити можливість інтенсифікації процесу очищення води та ґрунту від нафти у присутності препаратів ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* К-4 та *R. erythropolis* ЕК-1.

Експерименти показали, що у присутності досліджуваних препаратів ПАР у воді, забрудненою нафтою (2,6 г/л) активна деструкція нафти спостерігається вже через сім діб. У цей період було здійснено повторну обробку деяких модельних водойм препаратами ПАР. Через 30 діб ступінь деградації нафти становив 81–95%. Слід зазначити, що ефективність розкладання нафти практично не залежить від концентрації препаратів ПАР (5–15%) і є достатньо високою (понад 83–85%) навіть за одноразової обробки ними води. Не виявлено суттєвої різниці у здатності інтенсифікувати процеси деструкції нафти між препаратами у вигляді культуральної рідини і супернатанту. Встановлено, що ПАР *A. calcoaceticus* К-4 і *R. erythropolis* ЕК-1 інтенсифікують процеси деструкції нафти у ґрунті. Через 30 діб ступінь деградації нафти (21,4 г/кг ґрунту) у присутності препаратів ПАР (100–300 мл/кг ґрунту) у вигляді постферментаційної культуральної рідини становить 80–88%. Доведено, що мікробна деструкція нафти зумовлена як безпосередньою участю у цьому процесі живих клітин нафтоокислювальних бактерій *A. calcoaceticus* К-4 і *R. erythropolis* ЕК-1 та їхніх метаболітів, так і активацією природної нафтоокислювальної мікрофлори ґрунту під впливом поверхнево-активних речовин.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОСИНТЕЗА РАМНОЛИПИДА ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ РОДА *Pseudomonas*

МУХЛИС ИСМАИЛ АБЕДАЛАБАС, ГАЛКИН Н. Б.,
ФИЛИППОВА Т. О., ГАЛКИН Б. Н.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;
e-mail: tphilippova@ukr.net

Современный уровень развития биотехнологии позволяет получать с помощью микроорганизмов широкий круг природных соединений, такие как антибиотики, витамины, аминокислоты, энзимы и другие. Многие микроорганизмы способны синтезировать разнообразные биосурфактанты, которые эмульгируют углеводороды и облегчают процесс их переработки. Таким образом, одним из перспективных направлений в современной биотехнологии является поиск штаммов продуцентов этих веществ. Одной из групп природных веществ, которые проявляют биосурфактантную активность, являются представители рамнолипидов. Рамнолипиды используются микроорганизмами в качестве регуляторов численности популяции, а также способствуют утилизации в качестве единственного источника углерода водонерастворимых соединений, таких как жирные кислоты и углеводороды.

Целью данной работы было сравнительное изучения интенсивности синтеза рамнолипидов представителями рода *Pseudomonas*. В работе были использованы следующие штаммы: *Pseudomonas aeruginosa* РАО-1, АТСС 27853, АТСС 10145; *P. aureafaciens* 109, *P. fluorescens* и *P. ceracea* ТБМ. Выделение рамнолипида проводили из суточных культур использованных штаммов, которые выращивали на среде Гисса с 1% глюкозы, методом экстракции хлороформом. Содержание рамнолипида в образцах оценивали с помощью орцинового теста.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что интенсивность синтеза рамнолипида разными представителями рода *Pseudomonas* значительно различается. Так, наименьшую способность к образованию рамнолипида выявляли *P. fluorescens* и *P. ceracea* ТБМ. За сутки культивирования эти два штамма синтезируют его лишь 0,1–0,5 мкг/мл. По-видимому, для представителей этих двух видов рамнолипид не является основным биосурфактантом. Так, у *P. fluorescens*, по данным литературы, основным биосурфактантом является вещество липопептидной природы – вискозин. Несколько более высокой интенсивностью синтеза рамнолипида характеризуется штамм *P. aureafaciens* 109 – 1 мкг/мл. Самым высоким уровнем синтеза рамнолипида отличаются штаммы *P. aeruginosa*: АТСС 10145 – 4 мкг/мл; АТСС 27853 – 10 мкг/мл и РАО-1 – около 15 мкг/мл.

Таким образом, для получения суперпродуцентов рамнолипида предпочтительнее использовать штаммы *P. aeruginosa*, как штаммы с наивысшей базовой интенсивностью синтеза этого биосурфактанта.

СТАН ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ ПРОСТИХ ПОЛІЕФІРІВ

НАКОНЕЧНА О. А., ЖУКОВ В. І., СТЕЦЕНКО С. О.

*Харківський національний медичний університет, Україна;
e-mail: noksa07@mail.ru*

У зв'язку зі збільшенням забруднення навколишнього середовища різними групами ксенобіотиків і безпосереднім надходженням їх до організму людини та тварин актуальним є вивчення стану однієї з інтегративних систем організму — нервової — за дії простих поліефірів (ППЕ). Останні характеризуються великими об'ємами виробництва та широким використанням у різних галузях народного господарства.

Метою роботи було вивчення стану нервової системи в умовах впливу ППЕ у дозі 1/100 ДЛ₅₀ шляхом визначення стану оксидантно—антиоксидантної системи, вмісту біогенних амінів, нейроактивних амінокислот, циклічних нуклеотидів у гомогенаті головного мозку щурів.

Експерименти виконано на 90 щурах-самцях популяції Вістар із масою тіла 180–220 г. У роботі використані хімічні зразки ППЕ з регламентованими фізико-хімічними властивостями. Щурам протягом 30 діб внутрішньошлунково натще-серце зондом вводили водні розчини ППЕ. Показники стану центральної нервової системи (ЦНС) вивчали за допомогою спектрофотометричних та біохемілюмінесцентних методів.

Досліджувані ксенобіотики підвищують вміст дофаміну, норадреналіну, серотоніну, глутамату, аспартату на фоні зниження ГАМК та гліцину. ППЕ активують гуанілатциклазну та інгібують аденілатциклазну месенджерні системи. Речовини призводять до зміни стану оксидантної та антиоксидантної системи шляхом підвищення вмісту ТБК-активних та флуоресціюючих продуктів, сульфгідрильних груп, інтенсивності біохемілюмінесценції на фоні зниження активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази.

Таким чином, у механізмі біологічної дії ППЕ суттєвою ланкою є вплив на стан ЦНС, що супроводжується розгортанням процесів збудження на фоні пригнічення процесів гальмування; суттєвою зміною активності аденілат- та гуанілатциклазної месенджерних систем; виникненням напруженості у функціонуванні систем адаптації організму; порушенням активності систем пострецепторної реалізації сигналів; розвитком оксидативного стресу як обов'язкового компонента відповідної реакції організму на дію хімічних реагентів. Зазначений характер змін у ЦНС щурів дозволяє говорити про нейротоксичну дію та розвиток дисрегуляторних ефектів ППЕ, що призводить до негативних наслідків функціонування інших інтегративних систем організму, а саме ендокринної та імунної.

МОРФОГЕНЕЗ ГОРИЦВІТУ ВЕСНЯНОГО (*Adonis vernalis* L.) У КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

¹ОГОРОДНИК Л. Є., ²ЯКОВЛЕВА Л. М., ³КУТАС О. М.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: Kotelkina@ukr.net;

²Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, Київ;

³Центральний ботанічний сад НАН Білорусі, Мінськ

Горицвіт весняний — цінна лікарська рослина, належить до рідкісних видів флори України та інших країн. Рослина важко розмножується як вегетативним, так і генеративним шляхом. Вирішення проблеми можливо за допомогою клонального мікророзмноження, в основі якого лежить морфогенез рослин. Метою досліджень є вивчення особливостей морфогенезу рослини в культурі *in vitro*. Експлантами були бруньки відновлення, придаткові і збагачення, відібрані навесні, улітку і восени. Життєздатність ескплантів враховували на 16-у добу. Для їхньої стерилізації випробували розчини діациду, сулеми, азотнокислих срібла і ртуті та гідрохлориду кальцію в поєднанні з 70%-им етанолом. Повторність дослідів 3-кратна, в кожному варіанті 10–20 експлантів. Найбільш ефективною виявилася стерилізація 0,08%-им розчином срібла або 6%-им розчином гідрохлориду кальцію протягом 5 хвилин.

За нашими даними, 90 і 70% бруньок відновлення, виділених навесні і восени відповідно здатні до проліферації. У бруньок відновлення, відібраних улітку, утворення пагонів не спостерігали. У будь-яку пору року придаткові бруньки не утворювали пагонів. У бруньок збагачення спостерігалось 95–100% пагоноутворення. Отже, найбільша здатність до морфогенезу притаманна брунькам збагачення і відновлення, відібраним навесні і восени, що слід враховувати під час мікроклонального розмноження горицвіту весняного.

Agrobacterium — ОПОСЕРЕДКОВАНА ТРАНСФОРМАЦІЯ СОНЯШНИКА ТА ЇЇ ВПЛИВ НА ІНДУКЦІЮ РЕГЕНЕРАЦІЇ *IN VITRO*

ОКОРОКОВА Г. І., КОМІСАРЕНКО А. Г.

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут»;

Інститут фізіології і генетики рослин НАН України, Київ;
e-mail: annokorokova@meta.ua

На сьогоднішній день за допомогою біотехнологічних методів, відкриваються широкі можливості для створення нових селекційних сортів соняшника, що можуть бути використані для одержання високопродуктивних гібридів. Прогрес у генетичному поліпшенні елітних ліній і гібридів соняшника біотехнологічними методами обмежений з двох основних причин — відсутності рутинної системи ре-

генерації і низької ефективності стабільної трансформації. У зв'язку з цим цікавим є пошук факторів, які можуть позитивно впливати і на реалізацію морфогенетичного потенціалу, і на інтродукцію рекомбінантних молекул ДНК в геном *Helianthus annuus*.

Культурний соняшник *H. annuus* L. ssp. *annuus* — друга після сої основна олійна культура у світі. При розробці системи методів генетичної трансформації соняшника увагу дослідників головним чином сконцентровано на *Agrobacterium*-опосередкованій трансформації як напрямі біотехнології, при якому найчастіше спостерігається стабільна експресія трансгенів. Регенерація *in vitro* *H. annuus* може здійснюватися шляхом прямого або непрямого як органогенезу, так і соматичного ембріогенезу. Реалізація морфогенетичного потенціалу залежить від генотипу, типу та віку експланта, а також умов культивування.

Метою досліджень було розробити спосіб підвищення індукції регенерації соняшника, модифікувати поживне середовище, визначити вплив антибіотиків на індукцію регенерації.

Розроблено спосіб індукції регенерації із сегмента 3–4-денних проростків. Цей експлант може бути зручним об'єктом для *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації, оскільки пагоноутворення здійснюється через прямий органогенез за короткий період (5–10 днів), що знижує вірогідність соматичної мінливості при досить високій частоті регенерації. Об'єктом дослідження була інбредна лінія соняшника 16А/3 (селекції Одеського селекційно-генетичного інституту, НААН України). Для *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації використовували штам *LBA 4404*, що містить векторну конструкцію pBi2E з антисмисловим супресором гена проліндегідрогенази, генами *npt II* і *gus*. Цей бінарний вектор містить селективний ген неоміцинфосфотрансферази, що визначає стійкість до канаміцину, який може негативно впливати на частоту пагоноутворення і укорінення пагонів. Для елімінації агробактерій широко використовується антибіотик цефатоксим. На відміну від канаміцину, цефатоксим може підвищувати регенераційну здатність деяких видів рослин залежно від його концентрації. За агробактеріальної трансформації лінії 16А/3 спостерігається підвищення частоти регенерації у 2 рази на середовищі Мурасіге—Скуга з додаванням тіосульфату Na (МСМТ) і антибіотика цефатоксиму (500 мг/л) порівняно із середовищем МСМТ із додаванням цефатоксиму (500 мг/л) та канаміцин сульфату (100 мг/л).

В цілому показано, що для забезпечення оптимальних умов культивування та індукції регенерації у разі застосування агробактеріального штаму *LBA 4404* із векторною конструкцією доцільним є використання комбінації тіосульфату натрію, цефатоксиму і канаміцину. Важливе значення має тривалість та послідовність дії цих факторів.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ РОЗВИТКУ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧНО АКТИВОВАНИХ ЯЙЦЕКЛІТИН СВИНЕЙ У СЕРЕДОВИЩАХ ТС 199 ТА NCSU-23

ОСТАПОВЕЦЬ Л. І.

*Інститут розведення і генетики тварин
НААН України, с. Чубинське;
e-mail: ostlara@online.ua*

Життєздатність ранніх ембріонів ссавців обумовлена багатьма факторами, такими як зрілістю та генетичним статусом гамет, активацією ембріонального геному, міжклітинними взаємодіями, стадіоспецифічною експресією генів. Для ссавців характерна загибель деякої частини зародків на ранніх стадіях ембріогенезу. За культивування ембріонів *in vitro* порушення можуть бути спричинені як генетичним статусом ембріона, так і впливом низки зовнішніх чинників (наприклад, відсутністю факторів росту, збільшенням кількості токсичних метаболітів та ін.). Ембріони на ранніх стадіях розвитку найбільш чутливі до змін мікрооточення і зовнішнього впливу. Так, хоча за останні роки досягнуто значних успіхів в одержанні ембріонів свиней *in vitro*, проте ефективність цього знаходиться на досить низькому рівні. Одним із негативних чинників виступає високий рівень поліспермного запліднення яйцеклітин свиней *in vitro*. Застосування партеногенетичної активації яйцеклітин як біологічної моделі дозволить повноцінніше підійти до вивчення видових особливостей раннього ембріогенезу свиней *in vitro*.

Метою нашої роботи було проведення порівняльного аналізу розвитку активованих до партеногенезу дозрілих *in vitro* ооцитів свиней в середовищах ТС 199 та NCSU-23.

Ооцити свиней ($n = 177$), вилучені із яєчників забитих тварин, дозрівали в середовищі ТС 199 із додаванням 20%-ї еструсної сироватки крові та клітин гранульози ($3-5 \times 10^6$ клітин/мл) протягом 44 годин при температурі $+38,8^\circ\text{C}$ та 4% CO_2 . Дозрілі *in vitro* ооцити підлягали партеногенетичній активації 7%-им розчином етанолу протягом 7 хвилин. Після проведення активації ооцити культивували в середовищі ТС 199 або NCSU-23.

Встановлено, що частота формування партеногенетичних ембріонів була вірогідно вищою за культивування у середовищі NCSU-23, ніж у ТС 199 (70,4% проти 25,8%, $P < 0,001$). Партеногенетичні ембріони, які культивували в середовищі ТС 199, не проходять блок дроблення і зупиняють розвиток на 2–4-клітинній стадії. Проте збільшення рівня подальшого дроблення партеногенонів спостерігається за умови культивування в NCSU-23, де 15,6% ембріонів розвиваються до 5–16-клітинної стадії розвитку.

Таким чином, наші дослідження показали, що для культивування активованих яйцеклітин найдоцільніше використовувати середовище NCSU-23.

МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ ЗАХИСНИХ РЕАКЦІЙ У ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ

ОХРИМЕНКО С. М., ЯКОВЕНКО М. Г.

*Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, Україна;
e-mail: S.Okhrimenko@mail.ru*

Сполуки кадмію є поширеними забруднювачами довкілля, що здатні накопичуватись в організмі та спричинювати патологічні зміни. Один із механізмів дії кадмію — його здатність зв'язувати тіолові групи протеїнів та непротеїнових сполук, що виснажує систему антиоксидантного захисту та спричинює розвиток оксидативного стресу. Адаптація організму до дії будь-якого пошкоджуючого чинника забезпечується розвитком стрес-реакції за участю симпато-адреналової та гіпофізарно-надниркової систем регуляції. Метою нашої роботи було вивчення показників системи антиоксидантного захисту та показників стрес-реакції у щурів за введення хлориду кадмію в дозі, що спричинює оксидативний стрес. Об'єкт дослідження — 1-місячні щури-самці лінії Wistar, що отримували ін'єкції розчину хлориду кадмію в дозі 1,4 мг на 100 г маси тіла. Через 4 та 24 години в печінці, нирках та серці визначали вміст відновлених тіолових груп, активність каталази, а також активність аланін- та аспартатамінотрансфераз (АлАТ та АсАТ); у печінці визначали вміст глікогену та активність тирозинамінотрансферази (ТАТ), в сироватці — вміст церулоплазміну. Через 4 години після введення хлориду кадмію спостерігається значне зниження вмісту загальних SH-груп та підвищення активності каталази в печінці та нирках щурів, що може свідчити про посилення окисних процесів в цих органах та активацію ензиматичної ланки системи антиоксидантного захисту. В цей самий термін в печінці знижується вміст глікогену, що може свідчити про активацію симпато-адреналової системи та розвиток стрес-реакції в організмі. Через 24 години після введення хлориду кадмію встановлено підвищення активності ТАТ у печінці, АлАТ та АсАТ в нирках, що може бути пов'язаним з активацією глюконеогенезу під дією глюкокортикоїдів. У цей самий термін підвищувались активність каталази в серці, вміст церулоплазміну в сироватці та вміст протеїнових SH-груп в нирках та серці, що також може свідчити про формування захисних реакцій у тканинах. Отже, результати роботи дозволяють дійти висновку, що збереження гомеостазу в щурів у разі введення хлориду кадмію забезпечується активацією компонентів системи антиоксидантного захисту, а також активацією процесів, що забезпечують підтримання пулу вільної глюкози — глікогенолізу та глюконеогенезу. В роботі вивчено динаміку та особливості формування захисних реакцій в органах, що досліджувались.

ОСОБЛИВОСТІ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ ТА КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА ЕТАНОЛУ НА АКТИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

ПАДАЛКО В. І., КОЗЛОВА О. В., ЛЕОНОВА І. С.

*НДІ біології Харківського національного університету
ім. В. Н. Каразіна, Україна;
e-mail: padalko@univer.kharkov.ua*

На сьогодні однією із найпоширеніших концепцій щодо механізмів старіння є вільнорадикальна теорія, відповідно до якої старіння організму безпосередньо пов'язано із накопиченням з часом ушкоджених вільними радикалами кисню макромолекул клітини, що і призводить до відповідних наслідків для організму. Серед величезної кількості факторів, що сприяють цим процесам у тканинах, привертають до себе увагу ксенобіотики завдяки інтенсивному застосуванню яких у промисловості (наприклад важких металів, зокрема кадмію), або завдяки певного роду «традиціям», як, наприклад, етанолу, існує великий ризик їх несприятливої дії на організм живих істот. Практично в повсякденному житті не зустрічається вплив на організм тільки одного ксенобіотика, дуже часто має місце вплив декількох факторів, які у свою чергу здатні впливати на дію один одного. На жаль на сьогоднішній день дуже мало вивчено особливості дії на живі істоти як окремих ксенобіотиків, так і у їх комплексі залежно від віку тварин.

В експериментах використовували щурів-самців лінії Вістар 2- та 14-місячного віку, які протягом 3 днів отримували 1,5 мг хлориду кадмію або етанол у дозі 4 г на кг маси тіла, або обидва ксенобіотики одночасно.

Встановлено, що у печінці молодих тварин збільшення алкогольдегідрогеназної активності має місце тільки у разі введення етанолу. У той же час у дорослих тварин введення спирту не впливає на досить високий рівень активності, тоді як кадмій сам по собі, а також з етанолом, знижують цей показник.

Показано, що загальний вміст ізоформ гемопротейдів сімейства цитохрому *P*-450 (надалі цитохрому *P*-450), у печінці з віком тварин суттєво зростає. У молодих тварин етанол значно не впливає на сумарний рівень цитохрому *P*-450, тоді як кадмій (як самотійно, так і спільно з етанолом) зменшував цей показник. У дорослих щурів загальний вміст гемопротейду зменшувався вже при введенні одного етанолу, тоді як значно більше падіння рівню гемопротейду, ніж у 2-міс тварин, спостерігалось після введення кадмію як самого по собі, так і сумісно з етанолом. Аналогічні, але менш виразні зміни спостерігали при дослідженні вмісту іншого гемопротейду – цитохрому *b*₅.

У той же час, вміст у мікросомах печінки ізоформи цитохрому *P*-450, що відповідає за метаболізм етанолу – CYP2E1 (судячи з анілінгідроксилазної активності), суттєво не змінюється з віком тварин на етапах онтогенезу, що досліджується. Введення хлориду кадмію молодим тваринам призводить до вірогідного зниження активності гемопротейду, ще більшу знижку провокує етанол, тоді як сумісне введення ксенобіотиків суттєво не впливає на цей показник. У дорослих тварин, на відміну від 2-місячних щурів, найбільш виразне зниження активності

гемопротейду спостерігалось при введенні кадмію, тоді як етанол самостійно вірогідно не впливав на показник, що досліджується, та перешкоджав дії кадмію при сумісному введенні.

Таким чином, наведені результати свідчать про суттєвий вплив кадмію на показники, що досліджувались, особливо у дорослих тварин. Значно меншим або зовсім відсутнім був вплив етанолу, але у той же час отримані дані вказують на можливість втручання етанолу у механізми токсичної дії кадмію, що найбільш яскраво проявилось при дослідженні активності CYP2E1. Суттєво, що ступінь цього втручання може бути різним на різних етапах онтогенезу.

Робота виконувалась за підтримки МОН України (Договір М/348-2008).

ПРОТЕКТОРНИЙ ВПЛИВ L-АРГІНІНУ ТА ІНГІБІТОРА NO-СИНТАЗИ НА РАДІАЦІЙНОІНДУКОВАНУ ФРАГМЕНТАЦІЮ ДНК ЛЕЙКОЦИТІВ ЩУРІВ

ПЕРЕТЯТКО Ю. В., СИБІРНА Н. О.

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: yulia.peretyatko@mail.ru*

Ушкодження та відновлення кровотворення є критичними процесами у механізмі формування радіологічного ефекту та його наслідків на рівні організму ссавців. За радіаційного впливу в першу чергу руйнуються ушкоджені та функціонально нестабільні клітини, забезпечуючи збереження лише повноцінних кровотворних клітин-попередників і зрілих клітин крові. Лейкоцити відповідають таким чином за імунологічну безпеку організму в цілому. Це вказує на виключну значимість цих клітин. Незважаючи на це, імунокомпетентні клітини крові є одними з найчутливіших і гинуть протягом декількох діб за дії іонізуючої радіації. У разі помірного ступеню променевого ураження пострадіаційні процеси відбуваються під контролем ядра і можуть призводити до індукції генетично запрограмованої загибелі клітин. Отже, основною ланкою, чутливою до опромінення у клітині, є така високоорганізована суперструктура як ДНК.

Метою нашої роботи було дослідити процес фрагментації ДНК лейкоцитів периферичної крові щурів в умовах хронічного, 30-добового, рентгенівського опромінення у щодобовій дозі 1 сГ на фоні перорального введення L-аргініну — основного субстрату NO-синтази та L-NAME — неселективного інгібітора цього ензиму.

Дослідження вмісту фрагментованої ДНК в імунокомпетентних клітинах крові, які зазнали променевого ураження, виявили зростання вмісту фрагментованої ДНК у лейкоцитах периферичної крові щурів на 10-, 20- та 30-у добу опромінення у 1,4, 2 та 2,7 раза відповідно. Введення L-аргініну та L-NAME контрольним тваринам не призводить до вірогідних змін у вмісті фрагментованої ДНК. За опромінення на фоні введення L-аргініну нами відмічено зменшення величини цього показника на 20-у добу в лейкоцитах крові на 22% порівняно з аналогічними показниками тварин, що зазнали лише опромінення. У клітинах лейкоцитарного ряду опромінених тварин на фоні введення L-NAME ступінь ушкодження ДНК за своєю ін-

тенсивністю знижується у 1,2 та 1,5 раза на 20- та 30-у добу відповідно порівняно з показниками щурів, що зазнали лише опромінення.

Таким чином, нами показано, що як L-аргінін, так і L-NAME мають позитивний коригуючий вплив щодо зниження рівня фрагментованої ДНК у лейкоцитах периферичної крові щурів в умовах хронічного рентгенівського опромінення.

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ЗА ВПЛИВУ ІОНІВ СВИНЦЮ

¹ПЕРШИН О. І., ¹ВОРОБЕЦЬ З. Д., ²АНТОНЯК Г. Л.

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна;

²Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua

За надходження в організм людини чи тварин іонів свинцю, вони спричинюють токсичні ефекти у клітинах різних органів і систем. Проте механізми інтоксикації організму іонами свинцю на даний час до кінця нез'ясовано. Зокрема, недостатньо вивчено вплив Pb^{2+} на систему ензимів енергетичного обміну та гемопоезу. У зв'язку з цим метою нашого дослідження було з'ясування змін у деяких ланках метаболізму в еритроцитах лабораторних тварин під впливом іонів свинцю.

Дослідження проводили на білих лабораторних щурах самцях 3-місячного віку. Тваринам дослідної групи вводили розчин $(CH_3COO)_2Pb$ (10 мг/кг маси). Для досліджень виділяли еритроцити периферичної крові, в яких визначали спорідненість гемоглобіну до кисню, вміст 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ) і лактату та активність піруваткінази, лактатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

Показано, що введення Pb^{2+} зумовлює істотні зміни досліджуваних метаболічних показників. Так, на 3-ю добу експерименту виявлено, що в еритроцитах знижується активність піруваткінази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Одночасно виявлено вірогідне зменшення показника напівнасичення гемоглобіну киснем (P_{50}) від $30,5 \pm 2,1$ (контрольна група) до $22,8 \pm 1,9$ (дослідна група), що супроводжується зменшенням концентрації 2,3-ДФГ — алостеричного регулятора функціональної активності гемоглобіну. Разом з тим, на 10-у добу експерименту активність каталізаторів кінцевих стадій гліколізу (піруваткіназа, лактатдегідрогеназа) еритроцитів тварин дослідної групи нормалізується, тоді як активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази залишається низькою.

Таким чином, під впливом Pb^{2+} підвищується спорідненість гемоглобіну тварин до кисню внаслідок зменшення концентрації 2,3-дифосфогліцерату в еритроцитах і паралельно знижується активність ензимів енергетичного обміну піруваткінази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

НАПРАВЛЕННАЯ МУЛЬТИЛИНЕЙНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ МОНОСЛОЙНОМ И ОБЪЕМНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

ПЕТРЕНКО А. Ю.

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;
e-mail: alexander_petrenko@cryo.org.ua*

Целью работы явилось изучение дифференцировочного потенциала мезенхимных стромальных клеток (МСК) человека при монослойном и объемном культивировании в составе микрокапсул и макропористых криогелевых губок.

МСК выделяли из костного мозга, жировой ткани и дермы кожи взрослого человека в соответствии с этическими нормами. После экспансии в монослойной культуре иммунофенотип клеток определяли методом проточной цитофлуориметрии. Дифференцировку осуществляли добавкой соответствующих индуцирующих факторов в среду культивирования, продукты дифференцировки определяли биохимическими и гистологическими методами. Для инкапсуляции МСК смешивали с раствором альгината натрия и распыляли в раствор, содержащий ионы кальция. Макропористые губки изготавливали из альгината или агарозы.

Цитофлуориметрические исследования показали, что клетки, изолированные из костного мозга, жировой ткани и дермы кожи взрослого человека, после 4-го пассажа имели иммунофенотип, характерный для МСК (CD29⁺, CD44⁺, CD73⁺, CD105⁺, CD34⁻, CD45⁻). При монослойном культивировании в присутствии соответствующих индуцирующих факторов МСК дифференцировались в остеогенном, адипогенном и хондрогенном направлениях. Приводятся данные, свидетельствующие о способности МСК к индуцированной дифференцировке в неортодоксальных направлениях, таких как клетки поджелудочной железы и эндотелия сосудов. Рассматриваются особенности адгезии и пролиферации МСК при заселении микрокапсул и макропористых губок на основе биodeградируемых (альгинатные криогели) и небиodeградируемых (агарозные криогели) полимеров. В ответ на индуцирующие факторы МСК в составе альгинатных микрокапсул макропористых губок способны к направленной дифференцировке в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях.

Рассматриваются вопросы о перспективах применения МСК в регенеративной медицине и тканевой инженерии.

Работа выполнена при поддержке совместного гранта РФФИ и ГФФИ Украины (проект № 09-04-90403-Укр_ф_а).

РЕГУЛЯЦІЯ СИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 НА НЕВУГЛЕВОДНИХ СУБСТРАТАХ

ПИРОГ Т. П., ШЕВЧУК Т. А., ТАРАСЕНКО Д. О.,
ІГНАТЕНКО С. В.

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна;
e-mail: tapirog@usuft.kiev.ua

Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) завдяки біодеградації, низькій токсичності, стабільності фізико-хімічних властивостей у широкому діапазоні рН і температури використовуються у різних галузях промисловості і природоохоронних технологіях. Раніше із забруднених нафтою зразків ґрунту було виділено штам бактерій, ідентифікований як *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 і встановлено його здатність до синтезу ПАР на гідрофобних і гідрофільних субстратах. Проте концентрація ПАР була невисокою і не перевищувала 0,5 г/л. У зв'язку з цим мета роботи — дослідження особливостей метаболізму етанолу і гексадекану *R. erythropolis* ЕК-1 для інтенсифікації синтезу ПАР.

Встановлено, що катіони калію є інгібіторами алкангідроксилази і NADP⁺-залежної альдегіддегідрогенази, а катіони натрію — активаторами цих ензимів. Зниження в середовищі з *n*-гексадеканом концентрації K⁺ до 1 мМ, підвищення вмісту Na⁺ до 35 мМ, внесення 36 мкмоль/л Fe²⁺, необхідного для функціонування алкангідроксилази, супроводжується збільшенням активності ензимів метаболізму *n*-гексадекану, а також підвищенням у 4 рази кількості синтезованих ПАР. Підвищення у 1,5–2 рази концентрації ПАР у разі внесення в середовище з *n*-гексадеканом або етанолом 0,2% фумарату (попередника глюконеогенезу) і 0,1% цитрату (регулятора синтезу ліпідів) зумовлено інтенсифікацією синтезу поверхнево-активних трегалозоміколатів, про що свідчить збільшення у 3–5 разів активності фосфоенолпіруватсинтетази і трегалозофосфатсинтази порівняно з вирощуванням *R. erythropolis* ЕК-1 на середовищі без органічних кислот.

Встановлено, що за підтримання рН на рівні 8,0 у процесі культивування штаму ЕК-1 спостерігається переважний синтез позаклітинних метаболітів із поверхнево-активними властивостями, у той час як при рН 7,0 відбувається зміна спрямованості процесів конструктивного метаболізму в бік утворення емульгатора. Максимальні показники синтезу ПАР (концентрація позаклітинних ПАР 7,2 г/л, індекс емульгування культуральної рідини 50%, вихід ПАР від субстрату 50%) в умовах культивування штаму ЕК-1 у ферментаторі АК-210 на середовищі з *n*-гексадеканом спостерігається при концентрації розчиненого кисню 60–70%, рН 8,0 і дробного внесення субстрату по 0,3–0,4% кожні 5–6 год до кінцевої концентрації 2,4%.

**ОСОБЛИВОСТІ C₂-МЕТАБОЛІЗМУ
ТА ІНТЕНСИФІКАЦІЯ СИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-
АКТИВНИХ РЕЧОВИН *Acinetobacter calcoaceticus* K-4**

ПИРОГ Т. П., ШЕВЧУК Т. А., КОНОН А. Д.

*Національний університет харчових технологій, Київ, Україна;
e-mail: tapirog@usuft.kiev.ua*

Штам *Acinetobacter calcoaceticus* K-4, ізольований нами із забрудненого нафтою ґрунту, синтезує поверхнево-активні речовини (ПАР) на гідрофільних (етанол) і гідрофобних (*n*-гексадекан) субстратах. Слід зазначити, що нині в літературі практично відсутні дані щодо здатності бактерій роду *Acinetobacter* синтезувати низькомолекулярні ПАР, а також щодо синтезу мікроорганізмами ПАР на етанолі. Враховуючи, що цей водорозчинний субстрат на порядок дешевший за «нетехнологічні» водонерозчинні гідрофобні сполуки, його використання для одержання ПАР може суттєво знизити вартість кінцевого продукту. Одним із підходів до підвищення ефективності технологій мікробного синтезу є також визначення особливостей метаболізму ростового субстрату і виявлення можливих сайтів метаболічного лімітування і/або активаторів (інгібіторів) ключових ензимів метаболізму з наступною модифікацією поживного середовища. Мета роботи — підвищення синтезу ПАР *A. calcoaceticus* K-4 на основі дослідження особливостей C₂-метаболізму.

Експерименти показали наявність у штаму K-4 ензимів, нехарактерних для представників роду *Acinetobacter* і грамнегативних бактерій: 4-нітрозно-N,N-диметиланілін(НДМА)-залежних алкоголь- і ацетальдегіддегідрогеназ і трегалозофосфатсинтази. Встановлено, що катіони амонію є активаторами ензимів біосинтезу поверхнево-активних аміно- і гліколіпідів *A. calcoaceticus* K-4 (ФЕП-синтетази, ФЕП-карбоксикінази і NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази), а катіони калію і натрію — інгібіторами цих ензимів. Заміна нітрату калію в середовищі культивування штаму K-4 на еквімолярну за азотом концентрацію сечовини дала можливість підвищити показники синтезу ПАР у 4 рази. Зазначимо, що використання як джерел азоту для *A. calcoaceticus* K-4 амонійних солей (хлориду і нітрату амонію) супроводжувалось зниженням синтезу біомаси і ПАР, що зумовлено проблемами транспортування іонів амонію у клітини цього штаму. Наявність у *A. calcoaceticus* K-4 ФЕП-карбоксилазної активності — анаплеротичної реакції, характерної для росту на вуглеводних субстратах, служить стоком надлишкового СО₂, утворюваного в уреазній реакції. Крім того, функціонування двох анаплеротичних шляхів (ФЕП-карбоксилазної реакції і гліюксилатного циклу) забезпечує посилення гліюконеогенезу і підвищення синтезу поверхнево-активних гліколіпідів.

NOVEL INHIBITORS OF FACTOR Xa REVEALED FROM VIRTUAL SCREENING STUDIES

¹PLATONOV M. O., ¹KOVALSKYY D. B., ²SUDAKOV O. O.
³CHERNYSHENKO T. M.

¹Taras Shevchenko Kyiv National University, ChemBio Center;
e-mail: M.Platonov@univ.kiev.ua;

²Taras Shevchenko Kyiv National University;

³Palladin Institute of Biochemistry, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv

Cardiovascular related diseases being the major cause of mortality in developed countries demand development of the new anticoagulant drugs. Several enzymes from the blood coagulation cascade are suspected to be suitable targets for the drug development. FXa plays the important regulatory role in blood coagulation functionality. In present study we used virtual docking technique in order to discover novel inhibitors of FXa. Initially, Enamine chemical database was filtered to meet ADME properties similar to those of known FXa inhibitors. QXP program was used to dock appropriate compounds into the FXa active site and to prepare binding site of the FXa from crystal structure (PDB entry 1F0S). All the residues within 1 nm from the ligand were included into calculations and water molecules were removed.

Geometry filters are designed to select protein-ligand complexes from the database of molecular force-filed docking results. Filters proposed in the present work are approved to perform well for preliminary selection of ligands that can evidently function as inhibitors for the given protein. Geometry filters use molecular geometry of protein-ligand complex as the main filtering characteristic. Some filters also use several other parameters like atomic mass of atoms, etc. Geometry filters do not use approximated potentials of atoms interaction or other not well defined functions. All mentioned above makes proposed filters robust and quick for interactive usage. The main idea behind geometry filters is based on the fact that molecular docking can predict molecular geometry stationary point rather accurately. This fact is being proved by numerous X-ray structural analysis experiments. Other characteristics like energy cannot always be accurately calculated by the force-field method because force-field approximations do not always take into account significant factors like peculiar properties of charge density distribution. This knowledge will be used for further lead optimization of the most promising inhibitors. Activity of the resulted targeted library was confirmed with RVVT modified assay. We traced several preferences to P1 and P4 binding groups and additional interaction point within FXa binding site became evident also. This knowledge will be used for further lead optimization of the most promising inhibitors.

ВПЛИВ БІОЦИДУ НА ВЛАСТИВОСТІ КЛІНІЧНОГО ШТАМУ *Escherichia coli* 1257

¹ПОЛИЩУК Л. В., ²МАРІЄВСЬКИЙ В. Ф., ²РУБАН Н. М.,
²КРОЛЕВЕЦЬКА Н. М.

¹Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ;
e-mail: Polischuk@serv.imv.kiev.ua;

²Інститут епідеміології та інфекційних хвороб АМН України, Київ

Як відомо, внутрішньолікарняні інфекції (ВЛІ) є однією з найбільш гострих проблем сучасної системи охорони здоров'я як в Україні, так і в усьому світі.

Збудниками до 50% випадків ВЛІ є ентеробактерії (у тому числі штами кишкової палички). Одним із дієвих заходів, що попереджає та ліквідує спалахи ВЛІ є використання біоцидів (антисептиків, дезінфектантів (ДЗ) і антибіотиків) різної хімічної будови та призначення. Біоцидам залежно від їхньої хімічної будови, призначення різні механізми дії на клітину в цілому та на її окремі структури. Однак встановлено, що застосування менших, ніж летальна, концентрацій ДЗ призводить (крім бактеріостатичної, мутагенної та токсичної дії) до оборотних та/чи незворотних змін у метаболізмі та фізіологічних і морфологічних характеристик. Однією з найвживаніших в різних галузях господарства є група ДЗ, що містить сполуки четвертинного амонію (ЧАС), для яких характерний мембраноатакуючий механізм дії на мікробну клітину.

Метою роботи було дослідження довготривалого впливу дезінфектанту із групи ЧАС на штам *E. coli* 1257, на окремі важливі його фізіологічні і морфологічні характеристики. Дослідження стійкого варіанта 1257/35 виявили низку відмінностей в біохімічних, фізіологічних та морфологічних властивостях порівняно з вихідним штамом 1257. Так, за допомогою електронної мікроскопії виявлено відмінності в морфології клітин – нерівномірне потовщення клітинної оболонки, неоднорідність структури цитоплазми та включення в ній. Було встановлено втрату здатності клітин стійкого варіанта 1257/35 ферментувати дульцин та орнітин. Також спостерігали зміни в його спектрі стійкості до антибіотиків (в експериментах використовували 31 антибіотик різної хімічної будови і механізму дії): збільшилася чутливість до 11 з них (здебільше до бета-лактамних) та зменшилася чутливість до 2.

Таким чином, встановлено, що довготривале пасажування штаму *E. coli* 1257 на середовищі, що містило ЧАС призводить до відбору стійких до цих речовин варіантів, які мають низку відмінностей в біохімічних, фізіологічних та морфологічних властивостях порівняно з вихідною культурою. Однак у стійкого варіанта не виявлено елімінації плазмідної ДНК, змін її молекулярного розміру чи первинної будови.

БІОЦИДНА АКТИВНІСТЬ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК – ПОХІДНИХ 6-АМІНО-6Н-ІНДОЛО-[2,3-В]ХІНОКСАЛІНУ

¹ПОЛІЩУК Л. В., ¹ЛИСЕНКО Т. Г., ¹ЖОЛОБАК Н. М.,
²АНДРОНАТІ С. Ф.

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, Київ;

e-mail: Polischuk@serv.imv.kiev.ua;

²Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського
НАН України, Одеса

Як встановлено, деякі речовини, так звані індуктори інтерферону (ІФН), здатні активізувати власну інтерферонпродукуючу систему організму. З джерел літератури відомо, що крім імуномодельючої та противірусної активності індуктори ІФН, також виявляють антимутагенну та антиканцерогенну дію. Встановлено протективний ефект індукторів ІФН при мікобактеріальних, дріжджових, стафілококових чи сальмонельозних інфекціях.

Як повідомлялося раніше, похідні 6-аміноетил-6Н-[2,3-в]хіноксалину є ефективними противірусними агентами та індукторами ІФН. Встановлено, що хіміотерапевтичні індекси у разі профілактичного застосування *in vitro* двох таких сполук значно перевищують індекс лікарського препарату «Аміксину» з аналогічним механізмом дії. Похідні індолахіноксалину з різними групами замісників було синтезовано у Фізико-хімічному інституті ім. О. В. Богатського НАНУ.

У зв'язку з можливістю біоцидної активності досліджуваних похідних, постає необхідність провести апробацію їхньої дії на низці мікроорганізмів різної таксономічної приналежності. Як тест-культури використовували 20 штамів мікроорганізмів (дріжджі, актиноміцети, бацили, кишкова паличка, стрептококи, мікрококи, псевдомонади, протей). Наведені мікроорганізми характерні для різних еконіш: наприклад, в дослідженнях було використано 3 клінічні штами кишкової палички.

Внаслідок вивчення біоцидної дії 6 похідних 6-аміноетил-6Н-[2,3-в]хіноксалину встановлено їхню активність відносно мікроорганізмів різної таксономічної належності і що ці речовини виявляють певну вибірковість дії щодо будови клітинної стінки (всі речовини не активні відносно грамнегативних мікроорганізмів). Протестовані гетероциклічні сполуки демонструють антибіотичну активність щодо окремих культур грампозитивних мікроорганізмів та дріжджів: найменш активні пригнічували ріст 4 штамів, в той час як найактивніші – 10 штамів. В той же час лікарський препарат «Аміксину» не виявляє біоцидної активності ні до жодної із 20 тест-культур.

Встановлено кореляцію приєднання груп CH_3 до різних атомів вуглецю одного і того самого ароматичного кільця зі зменшенням біоцидної активності трьох похідних 6-аміноетил-6Н-[2,3-в]хіноксалину.

**REAGENT ANTI-H FROM DWARF
ELDERBERRY (*Sambucus ebulus* L.) WITH IMPROVED
AGGLUTINATING ACTIVITY AND STABILITY**

¹POTAPOV M. I., ²LOOTSIK M. D.

¹*Russian Centre of Forensic Medicine Investigations, Moscow, Russia;*

²*Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;
e-mail: lootsik@cellbiol.lviv.ua*

Phytohemagglutinins (PHA) with anti-H specificity are used for detection of H-antigen in biomaterial as alternative to specific immune sera or monoclonal antibodies. Among several anti-H PHA the most frequently used is one from Dwarf elder fruits (*S. ebulus* L.) introduced by Potapov M. I. et al. (1971). Its main disadvantage is low agglutination titer and instability during storage. The aim of the present work was to develop the method of preparation of anti-H reagent from Dwarf elder fruits with improved properties (high agglutination titer, specificity) and stability during storage and transportation.

Dried berries were grinded and delipidated by diethyl ether. One part of dried material was treated by 2 parts of 1% NaCl solution at 4 °C during 90 min, pressed through gauze, the extract was adjusted successively to pH 4.0 with HCl and pH 7.5 with NaOH and formed precipitates were discarded by centrifugation. Dark red colored clear liquid with agglutination titer 1 : 256 was defined as *primary extract*. The solid residue was mixed with 3 parts of 1% NaCl solution and treated analogously as *primary extract*. From this extract protein was precipitated with ammonium sulfate added in proportion of 400 g/L. The precipitate was collected by centrifugation, dissolved in water and protein was reprecipitated with ammonium sulfate, 400 g/L. The sediment was dried on filter paper up to the state of semisolid plastic cake, which was stored at 4 °C..

For use in test of quantitative absorbtion the *primary extract* was diluted with saline up to titer 1 : 64, adjusted to pH 7.7 and preserved with 0.02% NaN₃. It can be stored at 4 °C for a year.

For absorbtion-elution test anti-H titer of reagent was adjusted to 1:1024 by addition of protein precipitate to *primary extract* in a proportion of 4 g of wet protein cake per 20 ml of extract. After pH correction to 7.7 and preservation with 0.04% NaN₃ reagent can be stored at 4 °C for a year.

Anti-H specificity is exhibited in tube hemagglutination test after 5 min incubation of 2% suspension of red blood cells with subsequent dilution of reagent in 0.1 ml volume in U-bottom tubes followed by 1 min centrifugation at 1500 rpm. Tight clots are registered, loose ones, readily dissipated, are not taken into account.

Studied PHA is beta-galactose specific, its purification leads to loss of anti-H specificity probably due to separation from glycosylated pigments which are present in extracts and modify activity of PHA providing its anti-H selectivity.

ИЗМЕНЕНИЕ ЦЕЛОСТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ НА НИХ НЕПРОНИКАЮЩИХ И ПРОНИКАЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ

РАМАЗАНОВ В. В., ВОЛОВЕЛЬСКАЯ Е. Л., КОПТЕЛОВ В. А.,
БОНДАРЕНКО В. А.

*Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, Харьков;
e-mail: cryo@online.kharkov.ua*

Эффективность использования полимерных непроникающих веществ при замораживании эритроцитов ограничена из-за значительного влияния их на осмотический градиент на клеточных мембранах, в связи с чем отмывые после замораживания клетки осмотически неустойчивы. Поэтому поиск повышения эффективности криозащитных сред, содержащих непроникающие вещества, является актуальным.

В работе установлено, что в эритроцитах после замораживания в жидком азоте (-196°C) в среде, содержащей декстран (M_r 35000) или полиэтиленгликоль (M_r 1500) в концентрации 20%, приготовленной на сахарозо-солевом растворе (0,3%-й NaCl+6,85%-ая сахароза) не наблюдается значительное накопление малонового диальдегида в мембранах и изменение активности глутатионзависимых энзимов (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы). Однако при отмывании криозащитных компонентов после замораживания в клетках отмечается значительное снижение содержания глутатиона. Если среда замораживания дополнительно включала проникающее вещество в концентрации 5% (ДМСО, глицерол, 1,2-ПД или глюкозу), то количество глутатиона уменьшается незначительно.

Полученные результаты позволяют предположить, что повреждение эритроцитов в средах с непроникающими соединениями при замораживании главным образом определяется нарушением осмотического градиента и мембранным стрессом. Защитой от указанного осмотического механизма повреждения является включение в среду с непроникающим проникающего соединения в невысокой концентрации (5%) и проникновение его в клетки. Это уменьшает дегидратацию клеток и действие осмотического стресса на них при замораживании, что приводит к сохранению барьерной функции мембран замороженных эритроцитов.

ПРИМЕНЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ MALDI-TOF ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ХИМЕРНОГО ПРОТЕИНА MPT63-MPT83

РЕБРИЕВ А. В., РЕДЧУК Т. А.

*Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;
e-mail: rebriev@ukr.net*

MPT63 и MPT83 — потенциально важные для серологической диагностики туберкулеза протеины *Mycobacterium bovis*, заслуживающие особого внимания благодаря своим иммунобиологическим свойствам. Последовательности генов *mpt63* и *mpt83* *M. bovis* были объединены методом SOE-PCR, получен экспрессирующий вектор и соответствующий слитый протеин MPT63-MPT83. Полученный рекомбинантный протеин был очищен с помощью металлоаффинной хроматографии.

Для идентификации структуры химерного протеина нами был проведен MALDI-TOF анализ триптических гидролизатов рекомбинантных протеинов MPT63, MPT83 и химерного протеина MPT63-MPT83. В спектре химерного протеина обнаружены пики, соответствующие пептидам исходных протеинов, а также пик, характерный только для химерного протеина, соответствующий участку объединения исходных последовательностей. Таким образом, по нашему мнению, масс-спектрометрия MALDI-TOF может стать эффективным методом определения структуры химерных протеинов.

ЕЛІМІНУВАННЯ ФЕНОЛУ З ВИКОРИСТАННЯМ ПЕРОКСИДАЗИ ХРОНУ, ІММОБІЛІЗОВАНОЇ НА ПОЛІСАХАРИДНОМУ НОСІЇ

РОМАНОВСЬКА І. І., ОСІЙЧУК О. В., СЕВАСТЬЯНОВ О. В.,
ГРОМОВОЙ Т. Ю.

*Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса;
Інститут хімії поверхні НАН України, Київ;
e-mail: romairina@gmail.com*

У теперішній час перспективним є метод елімінування фенолу з використанням пероксидази хрону (ПОХ) через високий ступінь окислення полютанту, утворення нерозчинних, легко відокремлюваних продуктів, проведення процесу в м'яких умовах. Проте недоліком методу є висока вартість комерційної ПОХ і одноразовість використання ензиму.

Метою дослідження була розробка способу елімінування фенолу з розчинів за допомогою частково очищеної виділеної ПОХ, ковалентно іммобілізованої на гідратцелюлозній мембрані «Діацел».

За модифікованим методом Баха одержаний гетерогенний (SDS-електрофорез) препарат ПОХ (основна фракція з M 40 кДа, RZ (A_{403}/A_{280}) 1,0; активність 100 од./мг (за пірогалолом), термін зберігання 5 міс.). Розроблені умови (pH — 5,0–7,5, t — 20–40 °C, τ — 1 год, $[H_2O_2]$ — 1,0 мМ) сприяли високому ступеню (80,4%) окислення

фенолу (1 мМ) з утворенням нерозчинних у воді і більшості органічних розчинників продуктів темно-коричневого кольору з розміром частинок 15–75 мкм. Встановлено $M_{2021,128}$ Да і структуру продукту окислення фенолу— поліоксифенілену $(C_6H_4O)_n$ (методи мас-спектрометрії: лазерної десорбції/часу іонізації в польоті, ІЧ-спектроскопії).

Виділений препарат ПОХ іммобілізували шляхом періодатного окислення гідратцелюлозної мембрани «Діацел» із кількісним зв'язуванням протеїну і збереженням 88% ензиматичної активності за відношення мас ензим : носій 0,2 : 1. Показано, що іммобілізований ензим каталізує окислення фенолу (0,25–200,0 мМ) в 1,2–3,6 рази ефективніше за вільну ПОХ, з утворенням полімерних продуктів, які адсорбуються на поверхні гідратцелюлозної мембрани. Встановлено, що біокатализатор у реакторі періодичної дії сприяє кількісному окисленню фенолу (1 мМ) протягом 7 циклів використання та високому рівню його біоконверсії (95–50%) у наступні 15 циклів. Таким чином, ковалентна іммобілізація на мембрані «Діацел» виділеного частково очищеного препарату ПОХ дозволяє одержати стабільний біокатализатор багаторазової дії реакції окислення фенолу.

ІНТЕНСИВНІСТЬ МЕМБРАННИХ ПРОЦЕСІВ ВИРОБНИЧИХ ШТАМІВ РОДУ *Escherichia* В УМОВАХ ВПЛИВУ НАНОЧАСТИНОК ЗОЛОТА

¹РОМАНЬКО М. Є., ^{2,3}РЕЗНІЧЕНКО Л. С., ³ГРУЗІНА Т. Г.,
³УЛЬБЕРГ З. Р., ²УШКАЛОВ В. О.

¹Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН України, Харків;

²Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, Київ, Україна;

³Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України, Київ;
e-mail: marina_biochem@list.ru

У біотехнологічних процесах, в основі яких лежить використання бактеріальних клітин, є актуальним пошук біобезпечних агентів, здатних до захисту та стимуляції фізіологічних та біологічних властивостей виробничих штамів. Такими потенційними агентами можуть виступати наноматеріали різноманітної природи, зокрема, наночастинки золота певного розміру.

У зв'язку з цим, досліджено вплив наночастинок золота середнього розміру (20, 30 і 45 нм) на інтенсивність окислювальних та енергетичних процесів у мембранах нативних клітин виробничих штамів *E. coli* №№ 20, 24, 25 і 57. Вивчена інтенсивність пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), окислювальної модифікації протеїнів (ОМП), показники їхньої регуляції та H^+ -АТР-азна активність, яка є ключовою в енергетичному метаболізмі бактерій.

Встановлено, що досліджені препарати наночастинок золота виявляють достовірно стимулювальну та/або відновлювальну дію на інтенсивність мембранних процесів клітин виробничих штамів *E. coli*, тобто характеризуються мембранотропною дією, найбільш вираженою для наночастинок золота розміром 30 нм.

Показано, що у мембранах клітин *E. coli* штамів №№ 20, 24 і 25 наночастинки золота достовірно гальмують інтенсивність процесів ПОЛ і ОМП. Регуляторні механізми нормалізації інтенсивності окислювальних процесів у мембранах клітин *E. coli* в цілому характеризуються втручанням реакцій загальної АОА та виснаженням активності каталази, що може обумовлювати потенціал клітин досліджених штамів щодо їхньої резистентності за дії стресорних чинників. Потенціал власної АОС клітин штаму № 57 виявився недостатнім для включення захисних механізмів щодо збереження нативної структури протеїнів і ліпідів їхніх мембран. Наночастинки золота здатні підвищувати АТР-азну активність препаратів мембран *E. coli* усіх штамів. Виражений стимулювальний ефект щодо АТР-азної активності (до 30–60% залежно від штаму) реєстрували у присутності наночастинок розміром 30 і 45 нм.

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ХЛОРОФИЛЛА *a* В ВОДНОЙ СРЕДЕ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИДИЙ ОДЕССКОГО ЗАЛИВА

РУСНАК Е. М., ИВАНОВИЧ Г. В., ЛИСОВСКАЯ В. И.

Одесский филиал Института биологии южных морей НАН Украины;
e-mail: obibss@paco.net

Черноморские мидии *Mytilus galloprovincialis* являются объектом промысла и культивирования, что обуславливает необходимость изучения особенностей их жизнедеятельности. Исследование динамики гликогена и каротиноидных пигментов в мидиях актуально, поскольку накопление этих компонентов в тканях моллюсков обеспечивает их высокую устойчивость к недостатку кислорода, вызываемому «цветением» фитопланктона. В ходе исследований, проведенных в 1990–2002 гг. на коллекторах марихозьяства и за его пределами (Одесский залив), была выявлена динамика концентраций хлорофилла *a* в среде и содержания гликогена и каротиноидов у мидий. В районе марихозьяства не зафиксировано четко выраженной сезонной изменчивости концентраций фотосинтетических пигментов. Высокие концентрации хлорофилла *a* (более 1,5 мг·м⁻³) отмечались с апреля по октябрь. Наибольшие концентрации пигмента составили 6,3 (в мае) и 7,6 мг·м⁻³ (в сентябре). Сезонная динамика содержания хлорофилла *a* за пределами марихозьяства характеризуется двумя выраженными пиками при более низких (в 1,2 раза) среднегодовых значениях.

Содержание каротиноидов в мидиях марихозьяства варьирует от 1 до 10,3 мкг·г⁻¹. Максимальные величины (10,3 и 9,9 мкг·г⁻¹) зафиксированы в период вспышек развития фитопланктона. Содержание гликогена в теле мидий изменяется от 0,41 до 6,41%, а содержание липидов – от 1,76 до 3,31%. Характер сезонной динамики содержания гликогена у мидий сопоставляемых районов совпадает (при более низком содержании у естественной популяции в первой половине года; $P < 0,001–0,005$). Однако концентрация каротиноидов у культивируемых мидий (6,4 мкг·г⁻¹) была значительно выше, чем у мидий естественного ареала (2,2 мкг·г⁻¹). Таким образом, при повышении концентрации хлорофилла *a* в водной среде у мидий, выращивае-

мых в условиях марихозияства, наблюдается повышение содержания гликогена и каротиноидов, позволяющее адаптироваться к последствиям протекающих здесь процессов вторичного эвтрофирования.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ПОРОСЯТ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ АНТИСТРЕСОВОЇ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ

САЛИГА Н. О., БУЧКО О. М., МАКСИМОВИЧ І. Я.,
СВАРЧЕВСЬКА О. З., ЦЕПКО Н. Л.

*Інститут біології тварин НААН України, Львів;
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua*

На сьогодні в Україні пропонується дуже багато антистресових препаратів. Засоби, що корегують стреси і імунodefіцити, одночасно позитивно впливають на збереження і продуктивність тварин. Метою наших досліджень було визначити вплив антистресової кормової добавки (АКД) на деякі гематологічні та імунологічні показники крові поросят для забезпечення їх необхідними елементами і зменшення дії стресорних чинників у критичний період відлучення від свиноматок.

Дослідження було проведено на поросятах великої білої породи свиней. Починаючи з 40-добового віку (жива маса тварин — 6,0–7,5 кг) було сформовано 2 групи поросят — контрольна і дослідна по 8–10 голів у кожній. Відлучення поросят від свиноматок проводили в 45-добовому віці. Поросята після відлучення утримувались у клітках по 8–10 голів без перегрупування, годівля проводилась стандартним раціоном вволю, з вільним доступом до кормів і води. Поросятам дослідної групи починаючи з 40- і до 54-добового віку до стартового комбікорму «PROVIMI»-5110, що використовується в цьому господарстві, додавали антистресову кормову добавку з розрахунку 1% (6г на тварину на добу). Контрольна група поросят отримувала тільки комбікорм «PROVIMI»-5110 без зазначеної добавки. До складу АКД входять: вітаміни А, D₃, Е, Н, К₃, С, групи В (В₁, В₂, В₅, В₆, В_с, В₃, В₄, В₁₂) та мікроелементи (Fe, Cu, Zn, Mn, Co, I, Se), а також амінокислоти лізин і метіонін.

Матеріалом для дослідження служила кров поросят обох досліджуваних груп, відібрана в 40-, 46-, 51- та 58-добовому віці з передньої порожнистої вени. В цільній крові свиней визначали гематологічні показники (кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкоформулу), імунологічні показники (фагоцитарну активність нейтрофілів, комплементарну активність сироватки крові) та концентрацію гемоглобіну.

За згодовування поросят антистресової кормової добавки в період відлучення від свиноматок в їхній крові встановлено вірогідно вищий вміст гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, лімфоцитів, а також вищу фагоцитарну активність нейтрофілів та комплементарну активність сироватки крові порівняно з такими показниками у тварин, які утримувались на стандартному раціоні. Для забезпечення поросят необхідними елементами і зменшення дії стресорних чинників у критичний період відлучення від свиноматок пропонується додавання цієї АКД із розрахунку 1% до їхнього раціону.

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АЛЬГИНАТНЫХ ГЕЛЕЙ С ХЛОРГЕКСИДИНОМ МЕТОДОМ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

САФРОНЮК С. Л., КАЦЕВ А. М.

*Крымский государственный медицинский университет
им. С. И. Георгиевского, Симферополь, Украина;
e-mail: katsev@mail.ru*

Для изучения высвобождения лекарственных веществ из лекарственных форм используются как аналитические, так и биологические методы. Такие исследования необходимы при создании новых лекарственных препаратов, совершенствовании существующих лекарственных форм, для разработки терапевтических систем с контролируемым высвобождением и доставкой.

В данной работе изучается возможность использования биолюминесцентного анализа в биофармацевтических исследованиях высвобождения лекарственных веществ из лекарственных форм. В основе этого биотеста лежит измерение интенсивности люминесценции морских светящихся бактерий в присутствии анализируемых проб по сравнению с контрольными значениями. Действие образцов оценивается по степени ингибирования бактериальной люминесценции.

Целью данной работы было изучить возможность использования морских светящихся бактерий для оценки скорости высвобождения лекарственного вещества хлоргексидина из альгинатных гелей различной плотности.

В работе использовали морских светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1, выделенные авторами из воды Азовского моря. Штамм был идентифицирован в соответствии с существующими рекомендациями по определению бактерий семейства *Vibrionacea* и рекомендациями по быстрой идентификации фотобактерий. Для приготовления гелей альгината кальция с хлоргексидином использовали 1%-й раствор альгината натрия и раствор хлорида кальция с концентрацией 0,05–5%. Смеси выдерживали 1,5–2 ч при комнатной температуре для завершения гелеобразования. Плотность гелей оценивали фотометрически (турбидиметрически) с помощью фотоэлектроколориметра КФК-2, по величине абсорбции при длине волны 540 нм. Измерение биолюминесценции проводили на биохемилюминиметре БХЛМ-06. Расчеты высвобождения проводили в микрограммах хлоргексидина в час, для чего использовали полученные ранее калибровочные кривые и уравнения линейной зависимости интенсивности биолюминесценции в процентах от концентрации антисептика.

Для оценки высвобождения хлоргексидина из полученных лекарственных форм в данной работе впервые был использован метод, основанный на измерении биолюминесценции светящихся бактерий. При контакте полученных альгинатных форм хлоргексидина с бактериальной суспензией происходит высвобождение антисептика, что приводит к усилению ингибирования биолюминесценции во времени. Кинетика биолюминесценции регистрировалась в автоматическом режиме с помощью самописца и вся измерительная система фактически представляла собой биосенсор, работающий в режиме on line. Полученные зависимости показали, что скорость высвобождения хлоргексидина определяется плотностью альгинатного

геля. Используя калибровочную кривую и полученное для нее уравнение, можно заключить, что при увеличении содержания хлорида кальция в гелях от 0,05 до 0,3%, плотность геля увеличивается приблизительно в 2 раза, что приводит к уменьшению скорости высвобождения антисептика от 2,7 до 0,27 мкг/ч. Такие значения скорости высвобождения лекарственного вещества означают, что полное высвобождение хлоргексидина произойдет за период от 1 до 10 ч.

ЗАСТОСУВАННЯ НАНОРОЗМІРНИХ ОЛІГОМЕРНИХ СИСТЕМ ДЛЯ ДОСТАВКИ ПРОТИМІКРОБНИХ ТА ПРОТИПУХЛИННИХ ПРЕПАРАТІВ *IN VITRO* ТА *IN VIVO*

^{1,2}СЕНЬКІВ Ю., ¹БОЙКО Н., ¹СКОРОХІД Н., ²ОСТАПЧУК Ю.,
²ШЛЯХТІНА Є., ³МІТІНА Н., ³СКОРОХОДА Т., ³МОСКВІН М.,
³ЗАІЧЕНКО О., ^{1,2}СТОЙКА Р.

¹Інститут біології клітини НАН України, Львів;

²Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;

³Національний університет «Львівська політехніка», Україна;

e-mail: julia senkiv@rambler.ru

Розвиток резистентності до лікарських препаратів характерний як для патогенних мікроорганізмів, так і для пухлинних клітин під час проведення хіміотерапії. Тому пріоритетними завданнями сучасної фармацевтики є не лише створення нових лікарських засобів, але й розробка ефективних методів цільової доставки ліків у клітини-мішені. Метою роботи було оцінити зміни ефективності дії протимікробних і протипухлинних препаратів *in vitro* та *in vivo* за умови доставки їх у клітини мікроорганізмів і пухлин за допомогою нових нанорозмірних полімерних носіїв.

У дослідженні використано комплекси синтезованих нами олігомерних наноносіїв з іммобілізованими на них лікарськими препаратами. Показано значне підсилення протимікробної дії антибіотиків ампіциліну і левоміцетину у складі таких комплексів на ріст бактерій *E. coli* шт. DH5. Зона затримки росту *E. coli* в 1,5–2 рази більша за дії комплексів, ніж за дії препаратів у вільній формі, що свідчить про більш виражений їхній протимікробний ефект. Нами також досліджено дію комплексів протипухлинного препарату доксорубіцину, іммобілізованого на олігомерних наноносіях, на пухлинні клітини різних ліній. Встановлено, що цитотоксична дія на пухлинні клітини такого комплексу в низьких дозах (0,01 і 0,1 мкг/мл доксорубіцину) є співрозмірною з дією вільного доксорубіцину у приблизно на порядок більших концентраціях. Таку дію цього препарату підтверджено *in vivo* при лікуванні мишей лінії BALB/C із прищепленою їм лімфомою NK/Ly. Показано, що одужання тварин наступало після курсу щоденного введення їм доксорубіцину в дозі 1 мг/кг маси тварини, тоді як за введення розроблених нами комплексів для одужання тварин була достатньою доза 0,1 мг/кг маси тіла. Одночасно спостерігали зменшення частоти проявів токсичної дії доксорубіцину на організм мишей, зокрема, в'ялості, проносу, втрати ваги тощо.

Використання розроблених нами олігомерних систем для доставки протипухлинних препаратів у ракові клітини дозволяє зменшити терапевтичну дозу ліків,

зокрема доксорубіцину, навіть у 10 разів із збереженням їхнього лікувального (протипухлинного) ефекту.

Дану роботу виконано за фінансової підтримки гранту УНТЦ № 4953.

ВПЛИВ ФІТОПРЕПАРАТУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ ПЕРЕПЕЛІВ

СІРКО Я. М., ГУНЧАК А. В., АНДРЕЄВА Л. В., КИСЦІВ В. О.,
КИРИЛІВ Б. Я., СТОЯНОВСЬКА Г. М.

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

Метою роботи було вивчити вплив препаратів кропиви на показники ліпідного обміну, стану антиоксидантної системи і вітамінний статус у перепілок.

Дослід проведено на 3 групах (контрольна та дві дослідних) японських перепілок, починаючи із 30-денного віку. До стандартного раціону птиці додавали кропиву дводомну у вигляді екстракту – 2 мл/гол/д (1-дослідна група) та сухого порошку – 150 мг/гол/д (2-дослідна група). Наприкінці дослідів проведено декапітацію птиці (по 5 голів із кожної групи) і взяття матеріалу для біохімічних досліджень (тканини печінки та жовтки яєць).

Проведені дослідження показали, що за застосування препаратів кропиви як у вигляді екстракту, так і сухого порошку, у перепілок 1-ї дослідної групи вміст гідропероксидів ліпідів у печінці та жовтках яєць порівняно з контрольною групою зменшується відповідно на 34,3 і 22,3% ($P < 0,01$), а у перепілок 2-ї дослідної групи – на 28,2 і 26,8%. Вміст ТБК-активних продуктів вірогідно зменшується у тканинах печінки перепілок: 1-ї дослідної групи на 37,0%, а 2-ї дослідної групи – на 36,2% ($P < 0,01$) порівняно з контрольною.

У тканинах печінки перепілок 1-ї дослідної групи, порівняно з контрольною відзначено зростання каталазної активності на 7,7% ($P < 0,01$), а у жовтках яєць – активності глутатіонпероксидази на 16,1% ($P < 0,05$).

Додавання до корму препаратів кропиви сприяє збільшенню концентрації вітаміну А і каротиноїдів. Так, вміст вітаміну А і каротиноїдів у печінці перепілок дослідних груп підвищується відповідно на 9,6 і 24,6%, а в жовтках яєць – на 15,4 і 11,1% ($P < 0,05$) порівняно з контрольною групою.

У перепілок дослідних груп збільшується вміст вільних жирних кислот (ВЖК) у тканинах печінки порівняно з контролем з одночасним зростанням рівня фосфоліпідів у жовтках яєць, що ймовірно зумовлено високим вмістом як каротиноїдів, так і вітаміну А в добавках, які виступають у ролі антиоксидантів, за рахунок чого відбувається зниження окислення ВЖК, які у подальшому використовуються для синтезу фосфоліпідів.

Збільшення вмісту каротиноїдів і вітаміну А в жовтках яєць перепілок дослідних груп свідчить про поліпшення харчової та біологічної цінності перепелиних яєць у разі додавання кропиви до їхнього раціону, як у вигляді екстракту, так і сухої добавки. Оскільки каротиноїди належать до потужних антиоксидантів, то зменшення вмісту продуктів ПОЛ у печінці та жовтках яєць зумовлено додатко-

вою кількістю каротиноїдів, які надходили з кормом у вигляді добавок препаратів кропиви.

РОЛЬ ВУГЛЕВОДНИХ КОМПОНЕНТІВ ГЛІКОКАЛІКСУ МОЛІКУТІВ ТА АГЛЮТИНІНУ ЗАРОДКУ ПШЕНИЦІ В АДАПТАЦІЇ ЇХ ДО ІСНУВАННЯ У ТКАНИНАХ РОСЛИН

СІЧКАР С. В., ЯСТРЕБОВА О. В., КОРОБКОВА К. С.

*Інститут мікробіології та вірусології
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: ssichkar.ukr.net*

Молікути широко розповсюджені у природі. Хвороби, які вони спричинюють називаються мікоплазмозами. Мікоплазмози частіше зустрічаються в районах вирощування зернових культур, овочів, декоративних і лікарських рослин. За шкідливістю мікоплазмози, за невеликим виключенням, належать до катастрофічних хвороб, які можуть набувати характер епіфітотій. Наприклад, втрати врожаю плодів томатів та інших пасльонових складають 30–38%, недобір врожаю картоплі — 18–20%, врожай пшениці може знижуватися на 80–90%, при цьому не лише знижується якість, а й відбувається загибель рослин.

За даними літератури, прикріплення бактерій і колонізація ними клітин хазяїна є першою ланкою в розвитку більшості інфекцій. Здатність мікроорганізмів адсорбуватися на відповідних клітинах певних організмів обумовлена наявністю специфічних рецепторів (на клітинах хазяїна) і адгезинів (на клітинах мікробів) та їхньою взаємодією. Вуглеводи є складовою частиною адгезинів та рецепторів, що специфічно зв'язуються.

Аглютинін зародку пшениці (АЗП) є молекулярним сигналом рослини-хазяїна, який змінює метаболізм бактерій, сприяє росту і розвитку рослини, високоспецифічний до N-ацетилглюкозаміну (Антонюк, 2005).

Відомо, що рецептори АЗП та адгезини *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* шт. 118 виявляють відповідну специфічність, що може впливати на адаптивні властивості останньої у тканинах пшениці. Метою нашої роботи було вивчити роль вуглеводних компонентів глікокаліксу *A. laidlawii* var. *granulum* шт. 118 та АЗП в адаптації її до існування в калусах пшениці.

При дослідженні нами поверхневого вуглеводного складу *Mollicutes* було виявлено такі цукри: галактозу, глюкозу, фукозу, арабінозу, манозу, рибозу, ксилозу, рамнозу, а також галактозамін і глюкозамін. Саме останнім моноцукрам притаманна властивість адгезинів до фіксації мікроорганізмів на поверхнях існування. Під впливом АЗП в ахолеплазм підсилюється метаболізм, збільшується біомаса, експресуються нові протеїни, відбувається також зменшення адгезивних властивостей клітинної поверхні патогену, що призводить до втрати вірулентності.

Отже, нами показано, що поверхневі вуглеводи фітопатогенних молікутів, взаємодіючи з лектинами рослин (АЗП) сприяють тривалому переживанню цих мікроорганізмів в рослині — хазяїні.

РОЗРОБКА МІКРОБІОСЕНСОРА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АТР

¹СОЛДАТКІН О. О., ¹ЩУВАЙЛО О. М.,
²СЕСПУГЛЮ Р., ¹СОЛДАТКІН О. П.

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;

²Відділ експериментальної медицини,
Університет ім. Клода Бернара, Ліон, Франція;
e-mail: alex_sold@yahoo.com,

Розробка нових методів визначення аденозинтрифосфату (АТР) є важливим, оскільки цей метаболіт бере участь у багатьох біологічних процесах. Зміна концентрації АТР може спричиняти різні модуляторні ефекти в центральній нервовій системі, може впливати на вивільнення нейромедіаторів, синаптичну пластичність, порушення циклів сну тощо. Крім того, зміна концентрації АТР може вплинути на респіраторні та локомоторні ритми та викликати депресії або агресії. Тому створення нового мікробіосенсора для високоточного визначення АТР є вельми актуальним.

В роботі, розроблено мікробіосенсор, призначений для моніторингу концентрацій АТР у мікрооб'ємах біологічних рідин *in vitro*, а також безпосередньо *in vivo* у нервовій тканині мозку ссавців. Біоселективна мембрана біосенсора була створена на основі двох ензимів: глюкозооксидази, що продукує пероксид водню за наявності глюкози в аналізованій пробі, та гексокінази, яка у присутності АТР фосфорилує глюкозу, знижуючи при цьому її базовий рівень, а, відповідно, і електроактивного продукту, пероксиду водню, у біоселективній мембрані біосенсора. Як амперометричний мікроперетворювач, чутливий до пероксиду водню, було використано мікроелектроди циліндричного типу, виготовлені з використанням платинового мікродроту діаметром 25 мкм. Висока селективність використаних у роботі мікроперетворювачів до пероксиду водню у присутності електроактивних речовин (допаміну, аскорбінової та сечової кислот тощо) досягалася за допомогою електрохімічного нанесення на поверхню платинового дроту напівпроникної мембрани на основі полі-*m*-діамінобензолу. Для іммобілізації біологічного матеріалу на поверхні мікроперетворювача було застосовано ковалентне зшивання ензимів глюкозооксидази та гексокінази з бичачим сиваротковим альбуміном за допомогою глутарового альдегіду.

Для оптимізації роботи розробленого мікробіосенсора для визначення АТР спочатку було вивчено залежність його відгуків від рН, концентрації Mg^{+2} та співвідношень концентрацій глюкози і АТР. Потім було визначено низку аналітичних характеристик біосенсора (чутливість та селективність до АТР, відтворюваність сигналу та операційна стабільність). Показано, що за оптимальних умов аналізу (рН 7,4, 2 мМ Mg^{+2} , 0,5 мМ глюкози) розроблений мікробіосенсор дозволяє визначити концентрації АТР, починаючи з 2,5 мкМ із часом відгуку 50 сек. Показано також, що розроблений мікробіосенсор дозволяє проводити селективне визначення АТР не тільки у присутності електроактивних речовин, а й у присутності низки аналогів АТР (аденозин ди- та моно- фосфати, гуанозинтрифосфат, уридинтрифосфат).

Розроблений амперометричний мікробіосенсор з успіхом може бути використаний для моніторингу рівня АТР у різноманітних біологічних рідинах *in vitro* та *in vivo*, а також для дослідження кінетики процесів продукування чи поглинання АТР в ензиматичних реакціях та у процесах дизайну інгібіторів специфічних кіназ та інших ензимів.

ЕФЕКТ ЧЕРВОНОГО ВИНА НА ЦИТОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

¹СТАРАНКО У. В., ¹ДАЦЮК Л. О., ²ЯЛАНЕЦЬКИЙ А. Я.,
²ГЕРЖИКОВА В. Г., ²МІЗІН В. І., ²ЗАГОРУЙКО В. А.,
¹СИБІРНА Н. О.

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: starankoulyana@mail.ua;

²Національний інститут винограду та вина "Магарач",
Ялта, Україна

Основним фактором ураження системи крові за дії низьких доз радіації є активація вільнорадикального пероксидного окислення ліпідів та окисна модифікація макромолекул внаслідок розвитку тривалого оксидативного стресу. Червоні вина, основними діючими речовинами яких вважають поліфеноли, виявляють виражені антиоксидантні властивості. Метою даної роботи було дослідити ефект червоного вина «Бастардо» (300 мл/70 кг/добу) на цитологічні показники периферичної крові щурів та активність ензимів системи антиоксидантного захисту (АОЗ) за дії рентгенівського опромінення у дозі 1 сГр/добу впродовж 30 діб. Піддослідних тварин (70 щурів) було поділено на 4 групи, показники визначали на 10-, 20- та 30-у добу експерименту ($n = 7$).

Вживання з питною водою червоного вина у групі без опромінення призводить до вірогідного збільшення впродовж експерименту вмісту лейкоцитів, еритроцитів, гемоглобіну (Hb), загального протеїну крові та підвищення активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази, зростання резистентності еритроцитів до дії кислотного гемолітика та активації еритропоезу. За радіаційного впливу виявлено синусоїдальний характер змін: зростання активності досліджуваних ензимів на 10-у добу експерименту, зниження на 20-ту добу з наближенням до рівня контролю до 30-ї доби; збільшення вмісту клітинних елементів крові, вмісту Hb та стійкості еритроцитів до дії кислотного гемолітика за сумарної дози опромінення 30 сГр після вірогідного зниження цих показників на 20-ту добу експерименту. У групі тварин, яких піддавали радіаційному впливу на фоні вживання червоного вина, не виявлено різких змін клітинного складу та вмісту Hb порівняно з контролем. Встановлено підвищення резистентності еритроцитів до дії кислотного гемолітика та активацію ензимів антиоксидантного захисту. Таким чином, експериментально підтверджено, що досліджуване вино є модулятором активності низки ензимів системи АОЗ та скевенджером активних форм кисню.

МЕТАБОЛІЗАЦІЯ СПИРТІВ КЛІТИНАМИ *Chlamydomonas reinhardtii*

СТЕПАНОВ С. С., ЗОЛОТАРЬОВА О. К.

*Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ;
e-mail: membrana@ukr.net*

Одноклітинна зелена мікроводорість *Chlamydomonas reinhardtii* існує за рахунок фотосинтетичного перетворення сонячної енергії і адаптована до звичайного або підвищеного вмісту кисню у середовищі. В умовах анаеробного існування в середовищі культивування *C. reinhardtii* накопичуються продукти бродіння — форміат, етанол і ацетат у співвідношенні 2 : 1 : 1. З метою вивчення процесів, які відбуваються в процесі адаптації клітин *C. reinhardtii*, пристосованих до анаеробних умов до існування в умовах окисного фотосинтезу, в роботі вивчали вплив метанолу і етанолу на ріст, швидкість дихання і ефективність фотосинтетичного перетворення енергії.

Клітини *C. reinhardtii* вирощували в колбах на рідкому мінімальному поживному середовищі TAP, без ацетату при цілодобовому освітленні інтенсивністю 100 мкмоль фотонів·м⁻²·с⁻¹. Об'єктом дослідження були хлоропласти 40-денних рослин шпинату (*Spinacia oleracea* L.). Концентрацію хлорофілу визначали за методом Арнона. Швидкість нециклічного фотофосфорилювання (у присутності 0,1 мМ метилвіологену) та циклічного фотофосфорилювання (у присутності 0,05 мМ феназинметасульфату) оцінювали потенціометричним та гексокіназним методом у діапазоні рН 6,5–8,2.

Встановлено, що бікарбонат, доданий екзогенно до концентрації 3–6 мМ, ефективно прискорює швидкість фотофосфорилювання. Максимальна стимуляція спостерігається при рН середовища близько 7,0. У разі підвищення рН до 7,6–8,2 стимулюючий ефект HCO_3^- різко знижується. Стимуляція фотофосфорилювання бікарбонатом ефективно усувається після нетривалої інкубації хлоропластів у присутності інгібіторів карбоангідрази водорозчинного ацетазоламідів і ліпофільного етоксизоламідів в концентрації 0,5 мМ. Дія інгібіторів карбоангідрази найбільш помітна при рН середовища 7,6: швидкість синтезу АТР, яка перевищує у присутності 6 мМ бікарбонату контрольну у 2,3 рази, після додавання ацетазоламідів і етоксизоламідів знижується і складає лише 120 та 125% контрольного значення відповідно.

Зроблено висновок, що швидкість фотофосфорилювання залежить не тільки від концентрації бікарбонату, а й від активності карбоангідрази. Роль карбоангідрази, яка забезпечує швидку трансформацію форм вугільної кислоти, полягає у збереженні достатньо високої концентрації вільного бікарбонату, що акцептує протони в центрах їхнього звільнення і пришвидшує протонний перенос.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА АКТИВНОСТЬ И СКОРОСТЬ АВТОЛИЗА КОММЕРЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА СУБТИЛИЗИНА

СТРЕХА И. С., ЧЕРНЯВСКИЙ Е. А., ШКУМАТОВ В. М.

*Учреждение Белорусского государственного университета
«Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем», Минск;
e-mail: biopharm@bsu.by*

В последнее время широкое применение находят различные моющие средства, содержащие в своем составе энзимы. Одной из главных задач при разработке данных составов является выбор поверхностно-активных веществ (ПАВ), не вызывающих денатурацию энзимов. Нами проведен анализ совместимости коммерческого препарата субтилизина (Properase 1600L, Genencor, Дания) с различными ПАВ. Исследованы лауретсульфат натрия, кокаמידопробилбетаин (КПБ), лаурилбетаин, кокамид ДЭА, алкилгликозиды, полиоксиэтиленгликолевые эфиры синтетических первичных высших жирных спиртов (синтанол), полиоксиэтилированные алкилфенолы, кокамидопропиламинооксид, дециламинооксид; смесь алкилгликозидов и этоксилированных спиртов (Berol 81, AkzoNobel, Швеция) и смесь алкоксилированных спиртов, аминов и четвертичных аммониевых солей (Berol 239, AkzoNobel, Швеция). Наряду с этим проанализированы запатентованные коммерческие препараты фторированных ПАВ: Zonyl FSP, Capstone FS-51, Zonyl FSN и Zonyl FSH (DuPont, США). Установлено, что в присутствии 0,1% лаурил бетаина и кокамидопропиламинооксида, энзим теряет около 40% активности. В присутствии остальных ПАВ энзим сохраняет более 90% активности. Наилучшие результаты были получены с КПБ, алкилгликозидами и синтанолом: активность субтилизина в присутствии данных соединений составляла 93, 99 и 98% исходной активности соответственно. Инкубирование энзима при 50 °С в буфере, содержащем 30% ПАВ в течение 5 суток приводило к потере 99, 90 и 75% исходной активности в случае алкилгликозидов, синтанола и КПБ соответственно.

ТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОДЕРЖАННЯ ГОТОВИХ ФОРМ БАКТЕРІОЛІТИЧНОГО ЕНЗИМНОГО ПРЕПАРАТУ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ

ТОДОСІЙЧУК Т. С.

*Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут»;
e-mail: totania@mail.ru*

Бактеріолітичний ензимний комплекс, що синтезується штамом *Streptomyces recifensis* v. *lyticus* 2435/М, став основою розробок низки готових форм препаратів різного призначення.

Зважаючи на сучасні тенденції розвитку біотехнологічної галузі України, видаються актуальними мобільні технології, що мають в основі один продуцент та базову схему виділення продукту з можливістю корегування його специфічності, готових форм та призначення.

Особливістю згаданого ензимного комплексу є вміст протеїназ, пептидаз, мурамідаз, N-ацетилглюкозамінідаз, комплексна дія яких призводить до руйнування клітинної стінки широкого спектра мікроорганізмів. Однак проведені дослідження показали, що змінюючи умови біосинтезу можна корегувати вміст окремих компонентів комплексу і провідну специфічність готового продукту. Тому метою роботи було визначення особливостей біосинтезу і виділення продукту для одержання готових форм препарату різного призначення.

Результати досліджень свідчать, що тривалість процесу біосинтезу для одержання продукту із провідною бактеріолітичною специфічністю має складати 48–60 год. Продукт, синтезований впродовж 72–95 год має переважаючу протеолітичну активність. Показано, що застосування баромембранних методів очистки дає можливість отримати технічний препарат (порошок) з активністю 140–200 тис. од./г для застосування у складі синтетичних миючих засобів з антисептичним ефектом, а також для знезараження специфічного медичного інструментарію.

Встановлено можливість одержання іммобілізованих форм ензимного препарату на основі аеросилу, причому ефективність адсорбційної іммобілізації комплексу з фільтрату культуральної рідини перевищує аналогічний варіант іммобілізації з розчину сухого препарату. Повнота виділення продукту при цьому сягає 85%. Попередня стерилізація фільтрату та подальше ліофільне висушування у флаконах дозволяє отримати медичний або косметичний засіб поверхневого призначення. Контактний спосіб висушування доцільний для одержання гранульованого технічного препарату пролонгованої дії.

Зазначений спектр готових форм препарату можливо одержувати на базі однієї технологічної лінії під замовлення споживачів цієї продукції.

**ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПЕРШОГО
ПОКОЛІННЯ ОПРОМІНЕНИХ ШТАМІВ
Cladosporium cladosporioides ТА *Paecilomyces lilacinus***

ТУГАЙ Т. І., ТУГАЙ А. В., ГАМАЛІЙ І. М., БОЙКО Т. Ю.

*Інститут мікробіології і вірусології
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: andre-1982@mail.ru*

У зв'язку з постійним радіаційним забрудненням довкілля на сьогодні є актуальною оцінка можливих віддалених наслідків дії хронічного опромінення в низьких дозах на окремих представників біоти, зокрема, на мікроскопічні гриби. Зважаючи на те, що біомаса грибів у ґрунті складає до 80% від мікробної біомаси, важливо оцінити антиоксидантний статус наступних поколінь грибів з радіоадаптивними властивостями, які можуть бути перспективними у процесах біоремедіа-

ції радіоактивно забруднених об'єктів. У літературі є лише поодинокі дані щодо взаємозв'язку між адаптуючою дозою іонізуючого опромінення та інтервалом після опромінення, протягом якого вірогідна підвищена радіорезистентність у досліджених тварин, рослин. Відносно мікроміцетів такі дані відсутні.

Метою нашої роботи було дослідити особливості функціонування ензимів антиоксидантного захисту у першого покоління опромінених штамів *Cladosporium cladosporioides* та *Paecilomyces lilacinus*.

У роботі було досліджено профіль антиоксидантних ензимів першого покоління, опромінених у модельній установці штамів грибів *C. cladosporioides* та *P. lilacinus*, які були виділені із зони відчуження і попередньо зазнавали впливу хронічного опромінення та контрольних, які були виділені із чистих відносно радіонуклідів територій та опромінені вперше. У першого покоління опроміненнях меланінвмісних штамів *C. cladosporioides*, що виявляли радіоадаптивні властивості, спостерігали підвищення рівня активності супероксиддисмутази, каталази та пероксидази. У першого покоління опроміненого контрольного штаму виявлено пригнічення пероксидази на фоні підвищення активності супероксиддисмутази та каталази. У першого покоління світлопигментованих штамів *P. lilacinus*, не залежно від наявності у вихідних штамів радіоадаптивних властивостей, спостерігали активацію пероксидази на фоні пригнічення активності каталази та супероксиддисмутази.

Таким чином, порівняльний аналіз одержаних даних дозволив охарактеризувати відмінності у функціонуванні антиоксидантної системи у першого покоління опромінених штамів *C. cladosporioides* та *P. lilacinus* залежно від присутності меланінового пігменту у клітинній стінці та від наявності чи відсутності у вихідних штамів радіоадаптивних властивостей.

ПРОФИЛЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ЭНЗИМОВ У ПОЧВЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ *Paecilomyces lilacinus* И *Cladosporium cladosporioides*

ТУГАЙ Т. И., ВАСИЛЕВСКАЯ А. И.

Институт микробиологии и вирусологии
им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;
e-mail: tatyanaatugay2@gmail.com

В процессе многолетнего мониторинга микобиоты загрязненных радионуклидами почв зоны отчуждения было показано, что в первые три года после Чернобыльской катастрофы преобладали меланинсодержащие микромицеты. В дальнейшем с понижением уровня радиоактивности почвы доминирующими стали светлопигментированные виды грибов. Одним из таких доминирующих видов, проявляющий высокую резистентность к радиации был *Paecilomyces lilacinus*. По нашему мнению, такое изменение в соотношении этих групп грибов может быть обусловлено определенными физиологическими особенностями светлопигментированных микромицетов по сравнению с меланинсодержащими, в частности, особенностями функционирования их оксидаз.

Целью работы было изучить в сравнительном аспекте профиль активности внеклеточных и внутриклеточных оксидаз *P. lilacinus* и *C. cladosporioides* – каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы, супероксиддисмутазы.

Показано, что исследуемые штаммы светлопигментированного *P. lilacinus* имеют высокий исходный уровень супероксиддисмутазы. Активность этого фермента у исследуемых штаммов более чем в два раза выше, чем у меланинсодержащего вида *C. cladosporioides*. Установлено наличие у штаммов *P. lilacinus* как внеклеточной, так и внутриклеточной каталазной, пероксидазной и полифенолоксидазной активности. Уровень внеклеточной каталазной и полифенолоксидазной активности выше, чем внутриклеточной. В противоположность этому у темнопигментированного штамма *C. cladosporioides* наблюдали или невысокий уровень внеклеточной каталазной активности или ее полное отсутствие. Исследуемые штаммы *P. lilacinus* обладают более высоким, по сравнению с *C. cladosporioides*, уровнем лигнинразрушающей внеклеточной и внутриклеточной пероксидазы, активность которой зависит от фазы роста исследуемых грибов.

Таким образом, у исследуемых штаммов *P. lilacinus*, выявлено высокий уровень антиоксидантных и лигнинразрушающих ферментов по сравнению с *C. cladosporioides*, что дает этому виду определенные экологические преимущества.

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ПЕРЕАМІНУВАННЯ В ЗЯБРАХ ТА ГЕПАТОПАНКРЕАСІ КОРОПА ЗА ДІЇ ТОКСИЧНИХ СПЛУК СТОКІВ ТВАРИННИЦЬКИХ ПІДПРИЄМСТВ

ТУПИЦЬКА О. М., ЦЕДИК В. В.

Національний університет біоресурсів
і природокористування України, Київ;
e-mail: olgatup@mail.ru

Останнім часом значні території землі, води та атмосфери часто забруднюються відходами промислових підприємств, що становить загрозу для здоров'я людей та тварин. Ці фактори негативно впливають на організм і нерідко виявляють кумулятивний характер, що призводить до порушення біохімічних процесів у тканинах. У зв'язку з цим вивчення впливу стічних вод на корошових риб дасть можливість запропонувати способи попередження їхнього негативного впливу на водні екосистеми.

Мета роботи полягала у вивченні активності ферментів трансамінування в гепатопанкреасі та зябрах коропа за дії стоків тваринницьких об'єктів.

Дослідження проведені на п'яти групах дволіток коропа в акваріумах об'ємом 40 л. До води акваріуму додавали різні концентрації стоків свиного комплексу. Контрольну групу риб тримали у відстояній воді.

Встановлено, що із збільшенням вмісту стоків у воді акваріумів підвищується активність аланінамінотрансферази (АлАТ) у гепатопанкреасі риб на 12,3% (1-а група), 24,7% (2-а група), 45,8% (3-я група), 62,7% (4-а група), а аспартатамінотрансферази (АсАТ) відповідно на 19,9; 35,1; 47,3 та 56,1% порівняно з конт-

ролем. Такий самий характер змін активності ензимів спостерігається і в зябрах коропа. Так, активність АлАТ в цьому органі підвищується на 27,3% (1-а група), на 39,9% (2-а група), на 68,2% (3-я група), на 80,5% (4-а група), а АсАТ відповідно на 17,4; 49,1; 78,4 і 92,6% порівняно з контрольною групою. Ймовірно, підвищення активності цих ензимів пов'язане з токсичним впливом на організм риб аміаку та органічних кислот, вміст яких у стічних водах є високим, та підвищенням проникності мембран клітин зябрового апарату, за рахунок чого зростає активність низки внутрішньоклітинних ензимів в умовах гіпоксії, яка спостерігається у риб дослідних груп.

Таким чином, за додавання до води акваріумів стоків тваринницьких підприємств змінюється інтенсивність процесів амоніє- та уреогенезу у тканинах коропа, про що свідчить зростання активності внутрішньоклітинних ензимів у зябрах та гепатопанкреасі риб порівняно з контролем.

ВЛИЯНИЕ ЛОВАСТАТИНА, АТОРВАСТАТИНА И ТЕРБИНАФИНА НА РОСТ КЛЕТОК И БИОТРАНСФОРМАЦИЮ ПРОГЕСТЕРОНА ТРАНСГЕННЫМИ ДРОЖЖАМИ *Yarrowia lipolytica* DE5-54.1, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ЦИТОХРОМЫ P-450c17 И P-450scs

ФАЛЕТРОВ Я. В., ШКУМАТОВ В. М., СИВОПЛЯСОВА А. В.

*Учреждение Белорусского государственного университета
«Научно-исследовательский институт физико-
химических проблем», Минск;
e-mail: biopharm@bsu.by, yaroslav82@tut.by*

Цель работы — исследовать взаимодействия трех лекарств (ловастатина (ЛОВА), аторвастатина (АТВС) и тербинафина (ТЕРБ)), способных ингибировать биосинтез стероидов, с цитохромами P-450scs и P-450c17, катализирующими биосинтез стероидных гормонов. Это представляет интерес для оценки фармакологических взаимодействий между этими лекарствами и ферментативными системами биосинтеза стероидных гормонов, а также для стимуляции транспорта экзогенных стероидов и их последующей трансформации дрожжевыми и гетерологично экспрессированными ферментами. Результаты моделирования с помощью программы Autodock и моделей P-450scs (pdb код 2asa) и P-450c17 (собственная модель) показывают, что исследованные лекарства способны связываться вблизи гема данных ферментов, тем самым конкурируя со стероидными субстратами. При спектрофотометрическом титровании препарата P-450scs растворами ЛОВА, АТВС и ТЕРБ регистрируются спектральные ответы II типа (увеличение $A_{420}-A_{390}$), что свидетельствует об их способности связываться вблизи активного центра P-450scs, однако их сродство к P-450scs в условиях эксперимента было значительно ниже по сравнению с таковым для кетоконазола. ЛОВА, АТВС и ТЕРБ подавляли P-450c17-зависимое 17 α -гидроксилирование прогестерона клетками трансгенного штамма дрожжей *Yarrowia lipolytica*, экспрессирующих P-450c17, на среде YNB. Относительная степень образования продукта (17 α -гидроксипрогестерона) за 24 ч составила 76, 79 и 88% в

случаях контролю ЛОВА, АТВС и ТЕРБ при их концентрации 0,25, 0,17 и 0,30 мМ соответственно (контроль – 92%).

ARE MOLECULAR MARKERS OF EXPOSURE IN BIVALVE MOLLUSCS VALID FOR THE APPRECIATION OF NOVEL BIOLOGICAL RISKS?

¹FALFUSHYNSKA H. I., ¹GNATYSHYNA L. L., ²GOLUBEV O. P.,
³GYORI J., ¹STOLIAR O. B.

¹Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine;

²A. D. Sakharov International State Ecological University,
Minsk, Republic of Belarus;

³Balaton Limnological Research Institute,
Hungarian Academy of Sciences, Tihany;
e-mail: Oksana.Stolyar@gmail.com

The resilience of many ecosystems is likely to be exceeded this century by an unprecedented combination of climate change, associated environmental disturbances, and other global change drivers. These circumstances offer an opportunity to unify approaches for mixture toxicity (multiple chemical) and multiple stressor (chemical/non-chemical) effect assessment. Bivalve mollusks are recommended to utilise as early bioindicators of environmental risks by the appreciation of oxidative stress, and also markers of genotoxicity and cytotoxicity. Among the markers of exposure to specific pollutants only metallothioneins (MTs), as marker of biologically available heavy metals in excess, are entirely approved. The validity of other biomarkers of exposure in bivalve mollusks is considered as rather questionable. The aim of this study was to appreciate the ability of a set of biochemical indexes to distinguish between persistent and casual local effects of spontaneous anthropogenic activities on the bivalve mollusk *Anodonta cygnea*.

Three sites were examined during spring, summer and autumn: an agricultural site in a lower portion of the river (A); the cooling pond of a nuclear power plant (N) and a forestry site in the higher portion of the river close to the municipal water inlet (F). A battery of markers included the markers of oxidative stress, concentration of metallothionein (MT), micronuclei (genotoxicity), activity of biotransformation system (ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) and glutathione-S-transferase (GST), lysosomal membrane stability (cytotoxicity), cholinesterase (ChE) activity (neurotoxicity), caspase-3 activity (marker of apoptosis) in the digestive gland and gills, and vitellogenin-like protein (Vtg-LP) level (endocrine disruption) in gonads.

General temporal regularity for moiety of indexes was shown by discriminant functional analysis. Casual local effects were best characterized by MT concentrations, lipid peroxidation (LPO), GST. At site A oxidative stress revealed overloading of the capacity of the antioxidant defense (high levels of LPO and rate of oxidized glutathione) in summer, which gave way to activation of antioxidant defense and ChE in autumn. At site N, in summer, a remarkable activation of both antioxidant defense and LPO was accompanied by extremely high activity of caspase-3 (3–7 times higher than in other sites). Site F might be appreciated as the reference site by a low level of oxidative damage in mussels. However, the abrupt increase of Vtg-LP level in the male mussels was shown here in autumn,

which was clarified later as being due to the emergency situation on the municipal dump located nearby.

Classification trees building using CART software selected peculiarities at each site: genotoxicity at site A, endocrine disruption at site F, a high rate of apoptosis at site N. Thus, a battery of biochemical indexes that included markers of general stress and exposure to specific kinds of pollution in freshwater bivalve mollusks despite earlier skepticism allowed imminent and persistent dangers to organisms to be specified and classed as critical in certain cases.

This work has been granted by Ministry of Education and Science of Ukraine (#M/25-2009, #M/13-2009) and State Fund of Fundamental Research (#F29/321-2009)

МЕТОДИКА ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИНУ НТ-2 МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

ФЕДЯКОВА О. І., КОЦЮМБАС І. Я.

*Державний науково-дослідний інститут ветпрепаратів
та кормових добавок, Львів, Україна;
e-mail: olesja_ver@mail.ru*

Токсин НТ-2 — представник трихотеценових мікотоксинів типу А, основним продуцентом якого є *Fusarium sporotrichioides*. Токсин характеризується нейротоксичною, гепатотоксичною, тератогенною, імуносупресорною та нефротоксичною дією на організм тварин. Сьогодні доведено, що навіть найменша кількість мікотоксинів виявляє негативний вплив та здатна поступово накопичуватися в сільськогосподарській сировині, продуктах харчування й кормах.

Сучасні методи аналізу не завжди високоспецифічні, а існуючі інструментальні методи не мають достатнього порогу чутливості для визначення низьких концентрацій токсину НТ-2.

Тому метою нашої роботи була розробка методу кількісного визначення токсину НТ-2 з високим порогом чутливості, враховуючи нездатність токсину НТ-2 до флуоресценції.

У зв'язку з цим у розробці методу використали дериватизацію зразків для переведення токсину у флуоресцентний комплекс з 1-антроїлнітрилом. Важливою ланкою методики є також чітке дотримання температурних і часових умов. Суміш зразка з дериватизатами (1-антроїлнітрилу та 4-диметиламінопіридину в толуолі в концентраціях 0,325 і 0,3 мг/мл відповідно) інкубували при температурі 50 °С та охолоджували на льодяній бані впродовж 15 хв.

Спираючись на дані літератури визначення трихотеценових мікотоксинів експериментальним шляхом було підбрано наступні хроматографічні умови: швидкість потоку елюенту 1 мл/хв; об'єм проби для ін'єкції — 0,05 мл; температура колонки 40 °С; хвиля збудження флуоресцентного детектора 380 нм, хвиля емісії 470 нм.

Також вивчали стабільність комплексу НТ-2-токсин-дериват, що є суттєвим для серійних досліджень кормів. Одержані результати показали, стабільність комплексу через 4, 8 та 24 год після приготування зразка і не відрізнялися між собою

більше ніж на 1,82%, тому їх можна вважати стійкими. В ході експериментів встановлено нижній поріг методики визначення токсину НТ-2 на рівні 3 ppb.

Отже, одержані дані чутливості і відтворюваності методики свідчать про її придатність кількісного визначення токсину НТ-2 для використання в лабораторіях контролю якості продуктів харчування і кормів.

**ЗАВИСИМОСТЬ ПАРАМЕТРОВ
БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПРОГЕСТЕРОНА
РЕКОМБИНАНТНЫМИ ДРОЖЖАМИ *Yarrowia lipolytica*,
ЭКСПРЕССИРУЮЩИМИ ЦИТОХРОМ *P-450c17*
ОТ КОМПОНЕНТОВ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД**

ФРОЛОВА Н. С., ЧЕРНЯВСКИЙ Е. А., РУДАЯ Е. В.,
АПОСТОЛ Н. А.

*Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск;
e-mail: biopharm@bsu.by*

Изучено влияние ростовых добавок на функциональную активность рекомбинантного штамма дрожжей *Yarrowia lipolytica* DE 5-54.1 (одновременно экспрессирующего четыре протеина млекопитающих — цитохромы *P-450scs* и *P-450c17*, адренородоксинредуктазу и адренородоксин под контролем промотора изоцитратлиазы) на минимальных и полноценных питательных средах. Использованы следующие добавки: гидролизат, экстракт и автолизат дрожжей и экстракт плаценты. В качестве критериев, оценивающих эффективность питательных сред, были привлечены показатели роста микроорганизмов и степень биотрансформации прогестерона в 17α -гидроксипрогестерон экспрессированным цитохромом *P-450c17*. Установлено, что добавление ростовых добавок к минимальным питательным средам увеличивало прирост биомассы и степень биотрансформации прогестерона. Наилучший результат достигнут в случае использования экстракта плаценты. Добавление экстракта плаценты к минимальной среде приводит к увеличению как прироста биомассы через 24 часа культивирования, так и скорости биотрансформации прогестерона в 17α -гидроксипрогестерон. Использование экстракта плаценты с полноценной средой практически не влияет на прирост биомассы, однако при этом увеличивается степень превращения прогестерона, которая достигает 99% через 24 ч биотрансформации.

СОЗДАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ УТИЛИЗАЦИИ ГЛИЦЕРОЛСОДЕРЖАЩЕЙ ФРАКЦИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ ИЗ РАПСОВОГО МАСЛА

ХОРУШКИН В. В., РУДАЯ Е. В., ШКУМАТОВ В. М.

*Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск;
Республиканское унитарное предприятие «Новополоцкий завод БВК»;
e-mail: stcbvk@yandex.ru*

Цель работы — исследовать возможность использования глицеролсодержащей фракции в качестве сырья в биотехнологической промышленности для получения белково-витаминного концентрата (БВК) кормового назначения. В качестве тест-системы, позволяющей оценить влияние компонентов фракции глицерола на физиолого-биохимические показатели микроорганизмов, применяли трансгенные дрожжи *Yarrowia lipolytica*, экспрессирующие ферменты биосинтеза стероидов, и дрожжи, традиционно используемые для получения кормового протеина. В периодических условиях традиционной жидкофазной ферментации все дрожжевые штаммы при росте и развитии на среде с глицеролсодержащей фракцией производства биодизеля характеризуются высокими технологическими показателями процесса культивирования. Установлено, что наиболее высокопродуктивными являются штаммы дрожжей *Yarrowia lipolytica* и *Candida tropicalis* P-5. Химический состав полученной биомассы исследовали по стандартным методикам на содержание абсолютно сухих веществ, сырого протеина, протеина по Барнштейну, РНК и др. Полученные данные по химическому составу биомассы дрожжей, выращенной на среде с глицероловой фракцией в качестве единственного источника углерода, соответствуют требованиям ГОСТа 28178 «Дрожжи кормовые». Биомасса всех штаммов выдержала тест-испытания на микробиологическую токсичность.

Таким образом, можно констатировать, что глицеролсодержащая фракция производства биодизеля из рапсового масла, является альтернативным источником углерода для роста и развития микроорганизмов в промышленном получении кормового протеина.

ПРОТИПУХЛИННА ТА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ СИСТЕМИ РЕНІЙ–ПЛАТИНА

ШАМЕЛАШВІЛІ К. Л., ШТЕМЕНКО Н. І.

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

Відомо, що розвиток новоутворень супроводжується оксидативним стресом, який є небезпечним для організму і може впливати на процес лікування та його ефективність. У наших попередніх дослідженнях показано, що використання протипухлинної системи реній–платина (Re:Pt — 4:1) приводить практично до повного

зникнення ракових клітин, до стабілізації активності ензимів антиоксидантного захисту та інтенсивності пероксидного окислення ліпідів.

Метою дослідження було вивчення впливу кластерних сполук ренію з органічними лігандами в ліпосомній формі та у вигляді твердих наночастинок разом із цис-платином на ріст пухлин та дослідження параметрів окисно-відновного стану крові щурів-пухлиноносіїв. Як модель було обрано карциному Герена.

Пухлиноносіям вводили наноліпосоми з ди-хлоротетра- μ -і-бутиратодиренієм(III) (ReI) та цис-платином (с-Pt) у молярному співвідношенні 4:1 — [ReI+с-Pt 4:1] nl та тверді наночастишки [ReI + с-Pt 4:1] np розміром 20–100 nm. Визначали розмір пухлини, активність каталази та супероксиддисмутази (СОД), інтенсивність процесу пероксидного окислення ліпідів.

Застосування змішаних наноліпосом було ефективнішим, ніж твердих наночастинок, оскільки призводило до ефективнішого пригнічення пухлини, що може бути пояснено різницею у транспортних властивостях цих нано-препаратів. Активність процесу пероксидного окислення ліпідів у разі застосування [ReI+с-Pt 4:1] nl зменшується на 70% порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв, а [ReI+с-Pt 4:1] np — на 40%. Активність СОД зростає у 2 рази за застосування [ReI+с-Pt 4:1] nl, та у 4 рази у разі використання [ReI+с-Pt 4:1] np порівняно з пухлиноносіями. За введення [ReI+с-Pt 4:1] nl та [ReI+с-Pt 4:1] np підвищується активність каталази у 1,5–2 рази порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв.

Отже, кластерні сполуки ренію з органічними лігандами разом із цис-платином виявляють антиоксидантну та протипухлинну активність у моделі канцерогенезу. Застосування змішаних наноліпосом, що навантажені протипухлинною системою Re — Pt 4:1 є ефективнішим, ніж твердих наночастинок, що може бути пояснено різними їхніми транспортними характеристиками.

СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ 1-МЕТИЛ-3-АЦЕТОКСИ-7-БРОМ-5-ФЕНІЛ-1,2-ДИГІДРО-3Н- 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНУ ЗА ДОПОМОГОЮ МІКРОСОМНОЇ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ СВИНІ

*ШЕШТЕРЕНКО Є. А., РОМАНОВСЬКА І. І., СЕВАСТЬЯНОВ О. В.,
СЕМЕНІШИНА К. О., ПАВЛОВСЬКИЙ В. І., АНДРОНАТІ С. А.*

*Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса;
e-mail: shesterenko@mail.ru*

Карбоксилестераза (СЕ 3.1.1.1) печінки ссавців є перспективною як біокаталізатор стереоселективного гідролізу і синтезу естерів і може використовуватися для одержання оптично активних лікарських речовин, у тому числі похідних 1,4-бенздіазепін-2-ону.

Метою дослідження була розробка умов проведення реакції енантіоселективного гідролізу 1-метил-3-ацетокси-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону, що каталізується карбоксилестеразою мікросомної фракції (МФ) печінки свині для одержання нових оптично активних сполук і вивчення їхніх властивостей.

Методом низькошвидкісної седиментації у присутності Ca^{2+} виділено МФ печінки свині з виходом за протеїном, співвідношенням РНК/протеїн, фосфоліпід/протеїн і естеразною активністю (за 1-нафтилацетатом) відповідно 41 мг/г тканини; 0,024; 1,158; 17,25 мкмоль/хв на 1 мг протеїну.

В оптимізованих умовах у водно-органічному середовищі (рН 7,0, $t = 37^\circ\text{C}$, час реакції – 2,5 год, концентрація диметилсульфоксиду – 40%) здійснений гідроліз 1-метил-3-ацетокси-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону з 50%-им ступенем біоконверсії. Показано, що продуктом гідролізу є 1-метил-7-бром-5-феніл-3-гідрокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-он (структуру підтверджено методами ТШХ, УФ-спектроскопії і мас-спектрометрії), який у процесі гідролізу і подальшого виділення піддавався рацемізації. Отримано S-енантіомер субстрату ($[\alpha]_D^{20} = +195,3^\circ$) і методом рентгеноструктурного аналізу встановлено його конфігурацію. У кристалі молекули утворюють два паралельних ланцюги завдяки взаємодії між бензольними ядрами, які конденсовані з діазепіновим гетероциклом. Відстані між сусідніми бензольними циклами молекул становлять 0,3379 нм.

Таким чином, розроблено метод стереоселективного ензиматичного гідролізу 1-метил-3-ацетокси-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону з виділенням S-енантіомеру вихідної сполуки; одержані дані свідчать про підвищення специфічності карбоксилестерази МФ печінки свині до R-енантіомеру досліджуваного естеру.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВЫДЕЛЕННОЙ И ЧАСТИЧНО ОЧИЩЕННОЙ ТИРОЗИНАЗЫ ГРИБОВ *Agaricus bisporus*

ШЕШТЕРЕНКО Ю. А., СЕВАСТЬЯНОВ О. В.,
РОМАНОВСКАЯ И. И.

*Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, Одесса;
e-mail: shesterenko@mail.ru*

Тирозиназа (ТИР) широко изучается как биокатализатор синтеза БАВ при создании биосенсоров для определения фенолов, а также для удаления фенольных поллютантов. Однако одним из основных недостатков применения ТИР является высокая стоимость энзима.

Цель работы — получение и исследование частично очищенного препарата ТИР *Agaricus bisporus* и выявление кинетических особенностей реакций окисления фенола и пирокатехина, катализируемых ТИР.

Из грибов *Agaricus bisporus* выделен частично очищенный препарат ТИР с выходом протеина 0,67 мг/г грибов, содержанием меди 0,19%, удельной активностью 500 ед/мг протеина в мин. Метод модифицировали добавлением поликапроамида, связывающего эндогенные ингибиторы ТИР, что позволило увеличить активность препарата в 3 раза. Исследование протеиново-фракционного состава ТИР (SDS-электрофорез) показало 9 протеиновых фракций, фракция с М 11,5 кДа соответствует легкой субъединице молекулы энзима, фракции с М 41–48 кДа — тяжелой, остальные, вероятно, балластные протеины либо продукты деградации. Методом

нативного электрофореза выявлено 17 фракций, 12 из которых обладают фенолоксидазной активностью (92,5% общего протеина).

В результате изучения кинетики реакций окисления фенола и пирокатехина, катализируемых ТИР, с использованием 3 методов линеаризации уравнения Михаэлиса–Ментен (Хейнса, Лайнуивера–Берка, Корниш–Боуден–Эйзенталя) определены K_m (152,27 и 157,31 мкМ) и V_{max} (1,69 и 31,45 мкМ/мин на 1 мг протеина) соответственно. Согласно механизму ТИР-катализа, получили величину лаг-периода окисления фенола (1,22 мин).

Обнаружено ингибирование субстратом в концентрации выше 0,55 и 4,47 мМ фенола и пирокатехина соответственно. Кажущиеся константы ингибирования ТИР фенолом и пирокатехином K_i : 2,0 и 98,1 мМ определены методом Диксона.

Таким образом, модифицированным методом получен энзим с увеличенной в 3 раза активностью, изучены его протеиново-фракционный состав, кинетика реакций окисления фенола и пирокатехина.

AMPEROMETRIC DETECTION OF ACETYLCHOLINE BY ACETYLCHOLINESTERASE BIOSENSOR WITH PLATINUM DISK ELECTRODES

SHKOTOVA L. V., DZYADEVYCH S. V.

*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: l.v.shkotova @gmail.com*

Determination of acetylcholine (ACh) and choline (Ch) is important in clinical practice. ACh is a neurotransmitter, and neurotransmitters play a significant role in the brain as they are the key link in communication between the neurons in spiral chord and in nerve-skeletal muscle junctions in vertebrates. An activity of the enzyme choline acetyltransferase in the brain decreases, often significantly, with age. This enzyme is responsible for synthesis of acetylcholine. Determination of ACh in the brain is important for the understanding of mechanisms of neurotransmission and neuroregulation, which in turn should facilitate early detection and effective treatment of neurodegradative diseases, such as Alzheimer's disease.

Some toxic chemicals, such as pesticides, glycoalkaloids, etc., act as cholinesterase inhibitors; thus they reduce the amount of cholinesterase available to be used in the organism. Millions of tons of pesticides (herbicides, fungicides, insecticides) are yearly used throughout the world in agriculture, medicine, industry and related activities. Many of them are highly toxic, and their accumulation in living organisms can be a cause of serious diseases.

Many methods for quantitative determination of ACh have been developed, including radio-labeling and gas chromatographic techniques, high-performance liquid chromatography (HPLC). However, they are time-consuming and expensive, have poor temporal and spatial resolutions, and require complex accompanying technical set-up.

The present work is devoted to development of amperometric biosensors containing two enzymes (acetylcholinesterase and choline oxidase) for determination of acetylcholine

concentration and subsequent evaluation of suitability of these biosensors for toxins, glycoalkaloids and neurotransmitters measurement.

The amperometric biosensors based on acetylcholinesterase and choline oxidase immobilized into saturated glutaraldehyde vapour, with platinum disk electrodes as transducers have been developed for determination of acetylcholine. The composition and immobilization conditions have been optimized for creating the active membrane based on acetylcholinesterase and choline oxidase. The impact of buffer concentration, pH and NaCl on the biosensor working characteristics was studied in detail. The biosensors developed show good analytical characteristics - reproducibility, operational and storage stability. The detection limit for acetylcholine was 0.01 mM.

The biosensors developed can be used for toxins, glycoalkaloids and neurotransmitters detection.

ТРАНСГЕННЫЕ ДРОЖЖИ *Yarrowia lipolytica*, ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ ЦИТОХРОМ P-450c17 КАК НОВЫЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ БИОКАТАЛИЗАТОР ПОЛУЧЕНИЯ СТЕРОИДОВ

ШКУМАТОВ В. М., ФАЛЕТРОВ Я. В., ФРОЛОВА Н. С.

*Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск;
e-mail: biopharm@bsu.by, vladshkumatov@tut.by*

Использование в качестве промышленных биокатализаторов синтеза стероидов трансгенных дрожжей, экспрессирующих энзимы биосинтеза стероидных гормонов, позволит в перспективе объединить желаемые свойства «встраиваемых» энзимов, аналогов которых нет у природных микроорганизмов, с общими достоинствами микробиологических методов. Реакция 17 α -гидроксилирования, важная для получения глюкокортикоидных гормонов, неэффективно катализируется известными природными микроорганизмами, тогда как цитохром P-450c17 млекопитающих высокоэффективно ее осуществляет. Трансгенные дрожжи *Yarrowia lipolytica* DE5-54.1, экспрессирующие P-450c17 и P-450ssc под контролем промотора изоцитрат-лиазы, могут использоваться как такой биокатализатор или его модель. Для этого исследовали влияние прогестерона (ПРОГ) в диапазоне концентраций 125–12,5 мкМ на рост трансгенных дрожжей *Yarrowia lipolytica* DE5-54.1 на минимальной среде YNB и солевой среде с добавкой 0,05% дрожжевого экстракта. Источники углерода — глицерол (0,5%) и этанол (индуктор изоцитрат-лиазы). Установлено, что в этом диапазоне концентраций ПРОГ не угнетает рост дрожжей. Степени образования 17 α -гидрокси-ПРОГ при исходной концентрации прогестерона 125, 62,5, 25, 12,5 мкМ за 24 ч роста/биотрансформации составляют 19,5, 51, 58 и 88% на среде YNB и 13,8, 37, 95 и 96% на солевой среде соответственно. Следовательно, более доступная солевая среда может использоваться для получения 17 α -гидрокси-ПРОГ. Также проведено сравнение способности клеток данных дрожжей катализировать превращение ПРОГ в 17 α -гидрокси-ПРОГ при использовании ряда веществ (этанола, ацетата натрия, олеиновой кислоты, гексадекана) в качестве источников углерода.

ВИДІЛЕННЯ НАТИВНИХ МІЦЕЛ КАЗЕЇНУ**ЮКАЛО А. В.**

*Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя, Україна;
e-mail: biotech@tu.edu.te.ua*

Протеїни казеїнового комплексу молока використовуються як субстрати для вивчення і моделювання деяких ензиматичних процесів. У першу чергу це стосується протеолітичних процесів, які відіграють важливу роль у виробництві ферментованих молочних продуктів. В останні роки встановлено, що казеїни молока ссавців є джерелом низки природних біоактивних пептидів (казоморфіни, казоксини, казокініни, казолателіни, казофосфопептиди, імуномодуляторні пептиди, бактеріцидні пептиди). Ці пептиди звільняються у процесі розщеплення казеїну у шлунково-кишковому тракті і можуть проникати у кров'яне русло. Для моделювання процесів протеолізу казеїну необхідно враховувати його складну надмолекулярну структуру. Найчастіше для досліджень використовують денатурований кислотний казеїн, який за своєю структурою і складом відрізняється від міцелярного природного казеїну, що не може не впливати на специфічність його протеолізу. Метою роботи є виділення казеїнового субстрату, який за складом, формою і властивостями відповідає природному казеїну молока.

Відома низка способів виділення казеїну, які різною мірою забезпечують збереження його нативної структури (гель-фільтрація на сефарозі або пористому склі, ультрафільтрація, ультрацентрифугування). Проте при цьому до 20% казеїнів денатурують або утворюють агрегати з протеїнами сироватки молока. Під час ультрацентрифугування втрачається частина міцел малих розмірів. Із врахуванням цього перспективним для виділення нативних міцел казеїну може бути використання принципу термодинамічної несумісності в системі «вода — протеїн — полісахарид». Нами була використана система четвертого типу за класифікацією В. Б. Толстогузова «вода — протеїн — кислий полісахарид». Проведений електрофоретичний аналіз фракційного складу одержаних казеїнових міцел показав, що в них зменшується вміст бета-казеїну, а також присутні залишки основних фракцій протеїнів сироватки молока. Нами запропоновано внести зміни в умови процесу розшарування системи, що дозволяють одержати нативні міцели казеїну, які складаються з електрофоретично чистих протеїнів казеїнового комплексу молока. Причому, співвідношення бета-казеїну до інших фракцій у складі казеїнових міцел знаходяться в межах, які зазначено в міжнародній класифікації протеїнів молока, прийнятій у 2004 р.

Виділені міцели за властивостями і протеїновим складом відповідають природним і можуть бути використані для дослідження і моделювання біохімічних процесів.

КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ ПРОТЕЇНОВОГО СКЛАДУ МОЛОЧНОЇ СИРОВАТКИ

ЮКАЛО В. Г., КОСТЮК К. Є.

*Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя, Україна;
e-mail: biotech@tu.edu.te.ua*

Молочна сироватка є обов'язковим побічним продуктом у виробництві твердих сирів, кисломолочного сиру, казеїну. Вона включає протеїни молока, які залишаються розчинними при рН 4,6 і температурі 20 °С. За сучасною класифікацією до протеїнів сироватки молока відносяться альфа-лактоальбуміни, бета-лактоглобуліни (А і В), альбумін сироватки крові, імуноглобуліни, лактоферин, протеїни жирових кульок та протеозо-пептонна фракція. Також у молочній сироватці можуть бути продукти розщеплення капа-казеїну – глікомакропептиди та інші гідрофільні фрагменти казеїнів. Фракційний склад протеїнів молочної сироватки залежить від технології виробництва різних молочних продуктів.

В окремих випадках співвідношення та вміст протеїнових фракцій має важливе значення для використання молочної сироватки. Це стосується замінників жіночого молока, гідролізаторів, біоактивних пептидів. Останнім часом показано, що ці протеїни є попередниками низки біологічно активних пептидів (актингіпертензивні пептиди, опіатні пептиди, антимікробні пептиди, антиоксидантні пептиди, антиканцерогенні пептиди та ін.). Знайдено чотирнадцять різних пептидів з альфа-лактоальбуміну та бета-лактоглобуліну, що виявляють інгібіторну дію на ангіотензин – перетворювальний ензим. У зв'язку з вищенаведеним, важливим є питання ідентифікації та визначення протеїнових фракцій у складі молочної сироватки. Для цього використовують хроматографічні та електрофоретичні методи. Переважно вони є недоступними для більшості лабораторій (дороге обладнання, складний процес аналізу).

Нами пропонується для аналізу протеїнів сироватки молока кількісний диск-електрофорез у пластинах ПААГ, який можна здійснювати на простому апараті типу Стадієра. Такий апарат може бути виготовлений у кожній лабораторії. Він дозволяє одночасно аналізувати різну кількість зразків. Диск-електрофорез проводили у нативних умовах модифікованої нами анодної диск-ПААГ системи для кислих і нейтральних протеїнів за Девісом. На одержаних електрофореграмах присутні всі фракції протеїнів сироватки молока відповідно до міжнародної класифікації протеїнів молока, прийнятої у 2004 році. Кількісний аналіз проведений у системі Matlab дозволяє встановити вміст протеїнових фракцій. Запропонована електрофоретична система може бути використана для контролю протеїнового складу молочної сироватки.

ВИДІЛЕННЯ ПОПЕРЕДНИКІВ ФОСФОПЕПТИДІВ ІЗ ПРОТЕЇНІВ КОРОВ'ЯЧОГО МОЛОКА

ЮКАЛО В. Г., СТОРОЖ Л. А.

*Тернопільський національний технічний університет
імені Івана Пулюя, Україна;
e-mail: biotech@tu.edu.te.ua*

Основна кількість фосфору у вигляді фосфосеринових залишків протеїнів молока входить до складу альфа-S1 і альфа-S2 фракцій казеїну. Вони містять від 8 до 13 фосфосеринових залишків на одну молекулу протеїна. Посттрансляційне фосфорилування альфа-S-казеїнів відбувається в молочній залозі під час біосинтезу молока. Специфічність казеїн-кінази, яка каталізує утворення фосфосеринових залишків, пов'язана з ділянками казеїну, багатими на залишки серину і глутамінової кислоти, які утворюють так звані триплетні зони — SerP-SerP-SerP-Glu-Glu. Такі послідовності знаходяться в альфа-S1-казеїні (66-70), альфа-S2-казеїні (8-12, 56-60, 129-133). Найважливішими властивостями фосфопептидів, які утворюються за протеолізу альфа-S-казеїнів, є здатність зв'язувати кальцій і переводити його в розчинну форму, що сприяє його засвоюванню організмом. У зв'язку з цим суміш альфа-S1- і альфа-S2-казеїнів доцільно використовувати як субстрат для одержання біологічно активних фосфопептидів. Тому метою нашої роботи було виділення очищеної суміші альфа-S1- і альфа-S2-казеїнів коров'ячого молока як попередників фосфопептидів.

Загальний казеїн виділяли із знежиреного молока шляхом потрійного переосадження в ізоелектричній точці хлоридною кислотою. Природні протеази молока інактивували оцтовою кислотою при рН 4,0. Фракційний склад казеїну аналізували електрофорезом у лужній системі однорідного поліакриламідного гелю в апараті Стадієра. Кількісну обробку одержаних електрофореграм проводили за допомогою програми, створеної в системі Matlab. Концентрацію протеїнів у препаратах казеїнів визначали спектрофотометрично при 280 нм, використовуючи відомі коефіцієнти поглинання.

За запропонованою нами схемою виділення суміші альфа-S-казеїнів передбачена очистка від бета-казеїну і його фрагментів шляхом подвійного переосадження у присутності 3,3 М сечовини при значеннях рН, близьких до ізоелектричної точки альфа-S-казеїнів. Залишки капа-казеїну відділяли за допомогою високих концентрацій іонів кальцію. Електрофоретичний аналіз на різних етапах виділення показав доцільність використання очистки суміші альфа-S-казеїнів у присутності сечовини (вихід від кількості загального казеїну становить 46%). Переосадження іонами кальцію призводить до зменшення виходу до 33%, але суттєво не впливає на ступінь очистки альфа-S-казеїнів. Препарат суміші альфа-S1- і альфа-S2-казеїнів пропонується використовувати як субстрат для одержання біоактивних фосфопептидів.

ВИВЧЕННЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ У КЛІТИНАХ *Chlamydomonas reinhardtii* – ПРОДУЦЕНТА БІОВОДНЮ – МЕТОДОМ КОНФОКАЛЬНОЇ ЛАЗЕРНОЇ МІКРОСКОПІЇ

ЯКИМОВА О. В., БІЛЯВСЬКА Н. О.

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ;
e-mail: membrana@ukr.net

Біологічне виробництво водню — перспективна галузь енергетики, основним завданням якої на даному етапі розвитку технологій вбачається підвищення ефективності перетворення енергії сонця на енергію водню. Властивість продукування біоводню характерна багатьом фототрофним організмам. Цей перелік включає кількості видів різних родів як прокаріотів, так і еукаріотів. Найзручнішою, добре вивченою і продуктивною серед них є одноклітинна зелена мікроводорість *Chlamydomonas reinhardtii*. Відомо, що за анаеробних умов *C. reinhardtii* здатна переклювати метаболізм із фотоавтотрофного продукування кисню на фотогетеротрофний шлях продукування водню. Найшвидшим і економічно виправданим способом досягнення анаеробіозу є переведення культури водорості на безсіркове середовище. При цьому концентрація кисню спадає до нуля вже в перші 20 год після переведення, тоді як активація продукування водню відбувається на 24-у годину. Очевидно, що відповідь на аноксію та нестачу сірки виявляється не лише змінами на рівні кількох окремих метаболічних шляхів, але і в інтегрованій відповіді всієї клітини. При цьому припускається, що кардинальні зміни відбуваються, в першу чергу, на рівні первинних процесів фотосинтезу. Метою роботи було дослідження впливу анаеробних умов та дефіциту сірки на функціонування первинних процесів фотосинтезу за умов продукування водню клітинами *C. reinhardtii*. Нами було експериментально досліджено динаміку змін флуоресценції хлорофілу протягом періоду анаеробного культивування культури *C. reinhardtii* за відсутності сірки методом конфокальної лазерної мікроскопії. Цей метод дає змогу неінвазійно вивчити та кількісно оцінити зміни флуоресценції хлорофілу клітин *C. reinhardtii* за умов продукування водню. Вивчення спектрів лазерно-індукованої флуоресценції хлорофілу клітин *C. reinhardtii* проводилося на конфокальному мікроскопі LSM5 Pascal (Німеччина). Збудження відбувається при довжині хвилі 488 нм. Вихід флуоресценції реєструвався у двох діапазонах — 505–545 та 560–750 нм. Одержані нами дані демонстрували часткове спадання флуоресценції хлорофілу в умовах анаеробного безсіркового культивування порівняно з контролем у клітинах мікроводорості *C. reinhardtii*. Це свідчить про порушення активності первинних процесів фотосинтезу на всіх стадіях продукування водню. Використання методу конфокальної мікроскопії виявилось зручним та ефективним засобом, що дозволяє кількісно оцінити функціонування фотосинтетичного апарату мікроводоростей.

**V. ВИКЛАДАННЯ БІОХІМІЇ,
МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ
ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ.
ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ
ФАХОВОЇ ПІДГОТОВКИ
МОЛОДИХ ВЧЕНИХ**

ДОПОВІДІ

РОЛЬ СУЧАСНИХ ПІДРУЧНИКІВ ІЗ БІООРГАНІЧНОЇ ТА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ ДЛЯ МЕДВУЗІВ У ПІДГОТОВЦІ ВИСОКОКВАЛІФІКОВАНИХ БІОХІМІКІВ І ЛІКАРІВ

¹БАЧИНСЬКИЙ П. П., ¹ПОЛІШКО Т. М., ²ЦІГНАДЗЕ Т. П.

¹Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара, Україна;

²Дніпропетровська обласна дитяча клінічна лікарня, Україна;
e-mail: tcignadze@mail.ru

Один із розробників наукового методу дослідження явищ — очищення розуму від «ідолів» чи «привидів» шляхом звернення до результатів досліду та осмислення їх методом індукції — лорд-канцлер короля, англійський філософ Френсіс Бекон означив роль підручників як кораблів мислення, що подорожують на хвилях часу та дбайливо несуть свій вантаж від покоління до покоління. Приверненню уваги до ролі підручників спонукала підготовка приєднання системи вищої освіти України до Болонського процесу, починаючи з лютого 2003 р., коли міністр освіти і науки України і президент АПН України академік В.Г.Кремень заявив, що «здійснюватимуться подальші кроки інтеграції української освіти в європейський простір шляхом приєднання України до Лісабонської та Болонської конвенцій, в яких головним критерієм системи освіти називають компетентність випускників вищого навчального закладу». Офіційне приєднання відбулося 19–20 травня 2005 р. За невітшних підсумків 5-річного строку з часу приєднання до Болонської конвенції українські експерти дійшли висновку, що «нова система співпраці викладача зі студентами потребує нового покоління підручників, навчально-методичних матеріалів». Вони мають допомогти студентам під час навчання у вищому медичному навчальному закладі (ВМНЗ) оволодіти основами методу самостійного поглиблення знань, що відносять до критеріїв компетентності випускників ВМНЗ. Центральний методичний кабінет з вищої медичної освіти (ЦМК ВМО) МОЗ України (директор професор І. С. Вітенко) затвердив як базові підручники для спеціальностей 7.110 101: «Біоорганічна хімія» (2004 р.) та «Біологічна хімія» (2007 р.), написаних викладачами Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця. Ними ж складено відповідні навчальні програми, що затверджено ЦМК ВМО МОЗ України, що могло сприяти їхньому засвоєнню. У зазначених підручниках є багато матеріалу, який науково обґрунтований і непогано викладений, але є низка положень, які не підтверджені науково та представлені так, що за ними майбутнє. Так, у підручнику «Біоорганічна хімія», який, згідно з концепцією авторів, має підготувати студентів до вивчення матеріалу, викладеного у підручнику «Біологічна хімія», де представлено біохімічні процеси в клітинах організму людини, «наріжними каменями» автори вважають описані ними дослідження Ф. Вьолера (1828 р.) та С. Мілера (1953 р.), які, начебто, пояснюють виникнення живої матерії на Землі, та є «важливим етапом у сучасному розумінні генезису біоорганічних сполук». Так, сумнівні гіпотези представлені як теорії, що вимагалося раніше для підкріплення

сумнівної ідеології. В той же час науково обґрунтоване вчення В. І. Вернадського про біосферу, ноосферу та живу речовину і принципову відмінність останньої від неживої матерії навіть ніде не згадуються. У згаданому підручнику «Біологічна хімія» відсутній один із дуже важливих розділів «Біохімія та патобіохімія легень», що недопустимо для базового підручника. Не обговорені також біохімічні зміни в клітинах ЦНС організму людини в умовах довготривалої дії малих доз радіації, що для українських громадян є проблемним питанням. В той же час ми маємо чудовий взірець методології написання підручника з біохімії для ВМНЗ академіка О. В. Палладіна, яку ще не осягнуто в повному обсязі із врахуванням сучасних досягнень науки і педагогіки українськими авторами не тільки згаданих вище підручників. В «Українському біохімічному журналі» необхідно мати постійний розділ: «Дискусії», де мали б бути обговорені підручники і не тільки. Адже публікація в журналі тез доповідей конференції молодих вчених — це добре, але для справжнього навчання необхідна одночасна публікація запитань, відповідей та обговорення доповідей учасників з'їзду. Ми це зробили у 1967 р., отже досвід є. Ця ж пропозиція стосується X Українського біохімічного з'їзду та наступних з'їздів.

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКЛАДАННЯ КУРСУ «БІОХІМІЯ БІОЛОГІЧНИХ АГЕНТІВ» У НАЦІОНАЛЬНОМУ АВІАЦІЙНОМУ УНІВЕРСИТЕТІ

ВАСИЛЬЧЕНКО О. А.

*Національний авіаційний університет, Київ, Україна;
e-mail: vasoa@ukr.net*

Біохімія є однією з базових дисциплін для студентів-біотехнологів. Курс «Біохімія» викладається в четвертому семестрі як обов'язковий. У восьмому семестрі передбачено вивчення «Біохімії біологічних агентів», але цей курс є курсом вільного вибору. Протягом 12 тижнів студенти повторюють основні біохімічні закономірності, акцентуючи увагу на метаболізмі живих організмів, насамперед мікроорганізмів, що використовуються в біотехнологічних процесах.

За вивчення курсу передбачено лабораторний практикум. Студенти виконують лабораторні роботи, використовуючи як досліджуваний матеріал мікроорганізми, рослинну сировину, біологічні рідини. На заняттях доцільно використовувати ті живі об'єкти, з якими майбутні біотехнологи мають зіткнутися у своїй професійній діяльності. Вдалим в НАУ є проведення лабораторних занять у міжкафедральній лабораторії біобезпеки, у складі якої є і мікробіологічна лабораторія, і біохімічна. Студенти мають можливість не лише теоретично засвоїти матеріал, але й практично потренуватися у проведенні біохімічних дослідів із мікроорганізмами.

Навчання ведеться за кредитно-модульною системою. Додаткові індивідуальні завдання, які можуть включати елементи наукових досліджень, виконуються студентами для підвищення підсумкових модульних оцінок, а також загальної оцінки дисципліни «Біохімія біологічних агентів». Студенти, що виявляють здібності до наукової роботи і самостійно виконують дослідження, мають публікації, отримують додаткові бали і мають переваги під час вступу до магістратури.

Розширення лабораторії, укріплення її матеріально-технічної бази, забезпечення педагогічного процесу сучасним науковим обладнанням буде сприяти покращенню якості підготовки фахівців.

Важливим у процесі складання навчальних програм із дисципліни є орієнтування на посилення зв'язків з біотехнологічним виробництвом. Також безумовну користь для навчання має дати втілення сучасних наукових розробок, винаходів у навчальний процес.

Студенти, що віддають перевагу вивченню інших дисциплін вільного вибору і не вивчають «Біохімію біологічних агентів», не отримують значного обсягу важливих теоретичних знань та практичних навиків. Вважаю доцільним курс «Біохімія біологічних агентів» включити у програму підготовки біотехнологів як обов'язковий.

ПРОБЛЕМИ ВИВЧЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ В МЕДИЧНИХ УНІВЕРСИТЕТАХ

ВОРОБЕЦЬ З. Д., ЧУПАШКО О. Я.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua*

Важливою передумовою досягнення фаховості, високого кваліфікаційного рівня, формування наукового світогляду майбутнього лікаря-спеціаліста є розуміння ним глибинних механізмів етіології та патогенезу захворювань людини. Сьогодні пріоритетними в загальній структурі захворювань людини є ті хвороби, в походженні яких вагому, а інколи і вирішальну роль мають спадкові чинники. Саме тому для студента-медика важливо розвинути в собі потребу в освоєнні нових біологічних відкриттів, поміж яких відкриття в галузі молекулярної біології і генетики, без сумніву, домінують. Початок ХХІ століття ознаменувався повним розшифруванням геному людини, сформувалась наука геноміка, принципово розширений каталог генів і мутацій, з'явилась техніка біочипів ДНК, що дозволяє тестувати одночасно тисячі зразків, сформульовано поняття про трансдіючі мутації. Цей прорив у науці загалом, і в молекулярній біології зокрема, розширює діагностичні можливості медицини, створює передумови для подальшого розвитку молекулярної медицини, яка розглядає патогенез захворювань людини на молекулярному рівні.

Серед навчальних дисциплін, що слугують вищезазначеним цілям чільне місце посідає дисципліна «Сучасні проблеми молекулярної біології». Вона розглядає молекулярні основи спадковості і спадкових захворювань, сучасні питання генних технологій. Це дає можливість студентам зрозуміти зв'язок між молекулярною будовою гена та його експресією, засвоїти особливості організації генома людини. Отримані знання будуть мати значення для розуміння ролі мутацій і мутагенів різної природи у виникненні генних і хромосомних хвороб людини. Під час вивчення цієї дисципліни студенти навчатимуться інтерпретувати значення молекулярно-генетичних методів для діагностики спадкових та інфекційних хвороб, трактувати

значення методу клонування і отримання трансгенних організмів для біології і медицини, застосовувати знання з генної інженерії та біотехнології в практичній медицині.

Викладене вище свідчить про незаперечну пріоритетну роль вивчення курсу молекулярної біології. Однак, на наш погляд, з боку МОЗ України є ознаки формального підходу до викладення цього предмету, оскільки ця навчальна дисципліна згідно з кредитно-модульною системою навчання є в блоці дисциплін, що винесені як курс за вибором для студентів медичного факультету і практично не читається.

ВИКЛАДАННЯ БІОХІМІЇ: СУЧАСНІ ВИКЛИКИ

ЛУЩАК В. І.

*Прикарпатський національний університет імені Василя
Стефаника, Івано-Франківськ, Україна;
e-mail: lushchak@pu.if.ua*

Немає сумнівів, що біохімія є однією із ключових біологічних наук. Саме на основі біохімії створилася і розвивається група нових напрямів. На сучасному етапі існує низка проблем, пов'язаних із викладанням цього предмету в університетах в Україні. Біохімія розвивається як частина біології і це вірно. Проте зараз варто перерозподілити час у навчальних планах. Особливістю базової підготовки біохіміків має стати глибше володіння математикою і математичною статистикою, математичним моделюванням і біоінформатикою. Всі вони створюють базу для глибокого оволодіння математичною логікою і кількісним підходом. Для розуміння фізичних підходів слід цей блок поглибити і розширити певні розділи, а не давати фізику назгаль. Вивчення загальної хімії треба змінити на більш глибоке опанування механізмами хімічних реакцій, кінетичними і термодинамічними підходами, а не задовільнятих лишень описовою хімією. Сам курс біохімії, по суті, розділений на два — «Біоорганічна хімія» і «Біохімія». Це теж не добре, бо не створюється уявлення про біохімію як цілісний предмет. Окрім того навчання біохімії протягом двох академічних семестрів не дозволяє подати весь матеріал загального курсу біохімії — його для студентів-біохіміків треба викладати протягом трьох семестрів. Вище мова йшла тільки про базову підготовку біохіміків. Все це означає, що підготовку біохіміків, як і фізіологів, мікробіологів, молекулярних біологів тощо, з першого курсу треба проводити окремо від зоологів, ботаніків, екологів та ін. Варто було б скористатися досвідом Московського державного університету імені М. Ломоносова, де вже на перший курс абітурієнти поступають на два відділення — «загальної біології» і «фізіолого-біохімічне», і вже з першого курсу враховуються особливості підготовки фахівців. Гуманітарний блок варто мінімізувати, але навчання англійської мови має відбуватись протягом всього курсу навчання з переходом на викладання фахової англійської мови з початком навчання біохімії. По суті, дуже добрі результати дає паралельне навчання біохімії українською і англійською мовами. Наведені вище ідеї щодо модифікації навчання біохіміків дадуть можливість готувати фахівців світового рівня. Звичайно, варто звернути увагу на

матеріально-технічну базу — вона теж має відповідати сучасним вимогам. Оскільки навантаження на викладачів дуже високе і самі предмети, пов'язані з біохімією досить важкі, то слід зменшити навантаження викладачів з цього предмету.

ПІДРУЧНИКИ З БІОХІМІЇ УКРАЇНСЬКИХ АВТОРІВ

НАЗАРЕНКО В. І.

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

Видання підручників, навчальних посібників, практикумів є одним із важливих показників, які визначають історію розвитку біологічної хімії. Перший вітчизняний підручник у Росії, а фактично в Україні, та один із перших у світі з'явився в 1847 р., коли біохімія лише почала формуватися під назвою фізіологічної хімії у самостійну дисципліну, і мав назву «Курс фізіологічної хімії» (Харків: тип. Університету, — 271 стор.). Його автор — ад'юнкт Харківського університету Олексій Іванович Ходнев. По фактичному матеріалу та викладенню він відповідав кращим підручникам початку ХХ століття. У 1882 р. в Київському університеті надруковано «Підручник з фізіологічної хімії» професора А. Шеффера (763 стор.). Він складався з таких розділів: 1) Білкові тіла; 2) Травлення; 3) Соки тваринного організму; 4) Тканини тваринного організму; 5) Хімія виділень. Інтерес викликає «Короткий курс фізіологічної хімії за лекціями О. Я. Данилевського», складений студентами А. М. Пуссеном та Н. Н. Дьячковим у 1897 р. Перший в Україні і в Радянському Союзі підручник із динамічної біохімії Олександра Володимировича Палладіна вийшов з друку 1924 року під назвою «Учебник физиологической химии» великим (як на той час) накладом — 2000 примірників. У наступні 30 років він був єдиним у Союзі і витримав рекордну кількість видань — 25 загальним тиражем близько 200 тисяч примірників. Із цієї кількості видань було: 12 російською мовою, 5 — українською, а ще 7 — іншими європейськими мовами. На відміну від попередніх підручників інших авторів у «палладінському» біохімію було подано не тільки як статичну хімію живого, а і як динамічну та було закладено концепцію функціональної біохімії. Варто також згадати підручник «Физическая и коллоидная химия» (Курс лекций для биологов; Харьков: Изд-во Харьковского университета, 1957. — 347 с.), створений професором І. М. Буланкіним. У 1965 р. вийшло перше видання підручника І. В. Савицького «Основи біохімії» для студентів медичних інститутів (Вид-во «Здоров'я», Київ, — 614 с.), у 1973 р. у видавництві «Вища школа» — його друге видання, значно змінене і доповнене під назвою «Біологічна хімія», а у 1982 р. — третє. Чотирі видання підручника для вищих навчальних закладів за спеціальністю «Зоотехнія» та «Ветеринарія» створив професор із Білої Церкви О. І. Кононський — «Біохімія тварин» (1960, 1984, 1992, 1994). Маємо три видання чудового підручника «Біохімія» чл.-кор. АН СРСР Д. Л. Фердмана «Біохімія» (1959, 1962, 1966). Професор Київського національного університету імені Тараса Шевченка М. Є. Кучеренко із співавторами видали універсальний підручник «Біохімія» для студентів біологічних, медичних і ветеринарних спеціальностей вищих навчальних закладів (1993, 1995). Вдалими і сучасними можна визнати під-

ручники професора Ю. І. Губського «Біологічна хімія» (Тернопіль, Укрмедкнига, 2000. — 508 с.) та професора Я. І. Гонського зі співавторами «Біохімія людини» (там же, 2002. — 744 с.). Надається перелік та коротка характеристика підручників і навчальних посібників з біохімії, написаних і виданих українськими авторами в різні часи, які відіграли виключно важливу роль у підготовці висококваліфікованих кадрів.

СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКЛАДАННЯ БІОХІМІЇ І МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ В УКРАЇНІ

ШТЕМЕНКО Н. І.

*Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: ashtemenko@yahoo.com*

Українські вищі навчальні заклади (ВНЗ) знаходяться на останніх місцях у світових рейтингах навчальних закладів, навіть найкращі з них займають нижчі місця порівняно не тільки з американськими, а й з естонськими і перуанськими. Дивно, що країна з 46-мільйонним населенням не здатна створити хоч один університет, який би потрапив у тисячу кращих університетів світу (Френсіс Кернкросс, Кембридж UK). Нестача фінансування, низька заробітна платня викладачів, велике навантаження — перелік наших проблем, який можна продовжувати. Але існують і такі, що здатна вирішувати біохімічна спільнота. Підготовка біохіміків-бакалаврів зараз відбувається за напрямом «біологія» і ведеться за тими самими програмами, що й інші біологічні спеціальності. Така ситуація не відповідає ні якісній підготовці біохіміків, ні потребі сучасного суспільства у сторіччя біотехнології і потребує створення нового напрямку підготовки «біохімія». Якщо порівняти наш стандарт освіти з програмами підготовки біохіміків у закордонних ВНЗ, очевидно, що ми відстаємо за кількістю годин з хімічних дисциплін, спецкурсів та практичних занять із біохімії і молекулярної біології. Саме викладання біохімії для спеціаліста-біохіміка дається в нас у такому самому обсязі, як і для інших спеціальностей, і за ці години годі й думати про впровадження інтерактивних комп'ютерних методів навчання, що застосовуються у всьому світі. Серед таких методів можна навести інтерактивні вправи у «Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level», 2nd Edition Donald J. Voet et al., Univ. of Pennsylvania Seattle, Washington; IUBMB-Nicholson Animaps — анімаційні міні-карти, що дають уявлення про, наприклад, узгоджену роботу циклу трикарбонових кислот, ланцюг перебігу електронів та процес синтез АТФ і ін. Пропонується продемонструвати деякі наглядні методи, програми деяких провідних ВНЗ та обговорити усі можливості вдосконалення біохімічної освіти в Україні.

СТЕНДОВІ ПОВІДОМЛЕННЯ

ОСОБЛИВОСТІ СУЧАСНОГО ВИКЛАДАННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ В ЗАПОРІЗЬКОМУ ДЕРЖАВНОМУ МЕДИЧНОМУ УНІВЕРСИТЕТІ

АЛЕКСАНДРОВА К. В., БІЛОКОНЬ Л. Є., МАКОЇД О. Б.,
КРІСАНОВА Н. В., РОМАНЕНКО М. І., РУДЬКО Н. П.,
БІЛЕНЬКИЙ С. А.

*Запорізький державний медичний університет, Україна;
e-mail: aleksandrovaev.55@gmail.com*

В наш час у системі медичної освіти широко використовуються інформаційні технології, а біохімія — це предмет, у викладанні якого саме інформаційні технології набувають особливого значення. Застосування пасивних та активних форм навчання студенти сприймають із цікавістю, але цього недостатньо. Для повного досягнення навчальних цілей кафедра біохімії та лабораторної діагностики університету, разом з кафедрою медичної і фармацевтичної інформатики та новітніх технологій, в навчанні студентів використовує інтерактивні форми навчання — автоматизовані навчальні системи (АНС). Вони передбачають комплексну роботу студента з формульним матеріалом і текстом, графічними об'єктами, візуалізацію метаболічних процесів з одночасною локалізацією в компартментах клітини. Такі підходи потребують повної перебудови психології навчання студента і педагогічної діяльності викладача. На деяких заняттях ми застосовуємо АНС з комп'ютерною анімацією. Наші АНС складаються з блоків, які містять: 1) графічні об'єкти (анімовані та статичні), 2) інформаційно-довідкові текстові фрагменти, 3) контролюючий (тестовий) блок, 4) протоколи обліку роботи студента, 5) електронний журнал успішності. Текстові фрагменти виводяться на екран сумісно з анімацією або у вигляді гіпертексту. Використовуються анімаційні та текстові блоки українською, російською та англійською мовами. Крім того, студент може виводити на екран цифрову фотографію об'єкту, що вивчається за даною темою. Це може бути фотографія гістологічного препарату з електронного мікроскопа, комп'ютерна модель хімічної будови молекули субстрату або модель молекули ензиму та ін. Така форма подання інформації дозволяє студентам зупинитися на будь-якому етапі навчання та повернутися для повторення поняття або фрагмента тексту. Після вивчення матеріалу студент має можливість самостійно перевірити ступінь засвоєння теми вирішенням тестів. Надалі протокол обліку дозволяє викладачу відстежити якість роботи студента, кількість звернень до АНС, а також виявити найскладніші для засвоєння моменти теми та за необхідністю замінити (додати) матеріал. Електронний журнал фіксує оцінку кожного студента. Таким чином, застосування АНС дає студенту можливість звертатися до АНС у будь-який час навчального року, на значній відстані від навчального класу (інший корпус, гуртожиток, Internet-клуб), а викладачу — не тільки контролювати навчання окремого студента, але й змінювати завдання, рівень складності та об'єм інформації.

**О. В. ПАЛЛАДІН І СТАНОВЛЕННЯ
НАУКОВОГО НАПРЯМУ НЕЙРОХІМІЯ В ІНСТИТУТІ
БІОХІМІЇ (1925–1941 рр.)**

ВИНОГРАДОВА Р. П., ЧЕРНИШ І. Ю., ДАНИЛОВА В. М.

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

Однією з найцікавіших і важливих, разом з тим найскладніших проблем біологічної хімії є проблема біохімії нервової системи (нейрохімії), хімічних основ її діяльності. Для розуміння нервової діяльності виняткове значення має вивчення процесів обміну речовин, які відбуваються в головному мозку за різних його станів (спокій, гальмування, збудження).

Перші дослідження з біохімії нервової системи були наведено в статті О. В. Палладіна «Биохимия головного мозга и психохимия» (1922 р.).

Масштабніші і ґрунтовніші дослідження нейрохімії в Україні почалися у Харкові з утворенням О. В. Палладіним Інституту біохімії (1925 р.) і продовжились у Києві з 1931 р.

Основним досягненням у харківський період (1925–1931 рр.) було створення вчення про «хімічну топографію» мозку людини і вищих тварин. О. В. Палладін із співробітниками також встановив, що зміни функціонального стану організму (V_1 і С-авітамінози, голодування, вплив різних хімічних і фармакологічних сполук) супроводжуються характерними змінами біохімічного складу головного мозку.

На початку київського періоду (1931–1941 рр.) було показано, що на процеси обміну речовин в головному мозку впливають пори року; філогенетично найстаріші частини як центральної, так і периферичної нервової системи (сіра речовина спинного мозку) найбагатші на холестерол і ненасичені фосфатиди, а наймолодші (сіра речовина великих півкуль головного мозку) — протеїни. У головному мозку було виявлено високий вміст АТР і креатинфосфату як у дорослих тварин, так і в ембріональний та постембріональний період. Доведено, що гліколіз у центральній нервовій системі відбувається за участю фосфорних сполук так само, як у м'язах і дріжджах; гліколітична активність у мозку ембріонів і тварин на перших етапах постембріонального розвитку значно вища, ніж у дорослих.

У цей період під керівництвом акад. О. В. Палладіна виконували наукові дослідження Г. Я. Городиська, Т. Є. Любарська, Д. А. Цуверкалов, О. С. Савронь, С. В. Фомін, С. Ф. Епштейн, О. Й. Файншміт, С. Є. Епельбаум, О. Я. Рашба, Е. Б. Сквирська, Б.Й.Хайкіна, Ю. В. Лахно, В. І. Дьомін.

Таким чином, дослідженнями співробітників Інституту біохімії цього періоду на чолі з акад. О. В. Палладіним було чітко показано, що одночасно з анатомічною і функціональною топографією існує й біохімічна топографія головного мозку.

ЕЛЕМЕНТИ БІОХІМІЇ У КУРСІ ІМУНОЛОГІЇ

ВОЛОШАНСЬКА С. Я.

*Дрогобицький державний педагогічний університет
імені Івана Франка, Україна;
e-mail: bioddpu@ukr.net*

Біохімія як самостійна та складова загально біологічних дисциплін є важливою фундаментальною дисципліною у вивченні імунології.

Необхідно підкреслити, що сформувати базові знання з імунології у студентів-біологів неможливо без розуміння ними складних біохімічних механізмів підтримання гомеостазу живого організму у взаємозв'язку із факторами зовнішнього середовища.

Біохімічний аспект викладання імунології засвідчений програмою. У межах структурних частин програми передбачається вивчення молекулярних механізмів імунної відповіді, а також участі в цих реакціях молекул антитіл.

Розуміння студентами антигенних властивостей макромолекул ґрунтується на знанні про структуру і функціональну різноманітність природи макромолекул, синтетичних полімерів. Важливо довести, що синтез високоспецифічних антитіл як представників імуноглобулінів низки макросполук не може відбутися без ідентифікації антигенних структур в організмі кожного індивіду.

Біохімічні знання в імунології — це шлях до з'ясування перебігу реакцій неспецифічного захисту, насамперед за участю гуморальних факторів (інтерлейкінів, інтерферонів та ін.), активації шляхом обмеженого протеолізу компонентів системи комплементу тощо.

І, звичайно, складним і недостатньо розкритим з біохімічної точки зору є процес розвитку імунологічної толерантності, багатьох імунодефіцитних станів. Тому для кращого розуміння цих біохімічних реакцій потрібно навчити студентів умінь аналізувати та узагальнювати результати клініко-лабораторної діагностики.

Отже, найцікавішим для засвоєння студентами є відомості про формування різних видів імунітету. Стає очевидним, що неможливо з'ясувати певний імунний процес без глибокого розуміння біохімічних реакцій як з теоретичної точки зору, так і з практичної лабораторної діагностики.

**ВПРОВАДЖЕННЯ КУРСУ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ
БІОХІМІЇ ДО ПІДГОТОВКИ СПЕЦІАЛІСТІВ
ФАРМАЦІЇ У НФаУ**

ВОРОНІНА Л. М., ВОЛОЩЕНКО М. В., ЗАГАЙКО А. Л.,
ШОНО Н. А.

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

Функціональна біохімія (ФБ) є новою навчальною дисципліною, яку прийнято у впровадження до підготовки спеціалістів фармації на кафедрі біохімії НФаУ. Цей спеціалізований вибірковий курс передбачає вивчення особливостей будови і функціонування найважливіших органів, тканин і цілих систем в організмі людини в нормі та за поширених патологій, що дозволить посилити загальнобіологічну та клінічну підготовку майбутніх провізорів та клінічних провізорів.

Курс ФБ у НФаУ викладається з 2007/08 навчального року, він розрахований на 54 год, з яких визначено 10 год лекцій, 8 год семінарських занять і 36 год самостійної роботи студентів. Дисципліна вивчається студентами 3-го курсу фармацевтичного та медико-фармацевтичного факультетів денного відділення у VI семестрі і завершується заліком.

Курс ФБ, що розглядається, є принципово новим і для кафедри, і для підготовки провізорів в Україні взагалі і може бути названим пілотним. Відповідно до кількості годин ми включили до нього наступні теми: «Живлення, травлення та всмоктування», «Біохімія крові», «Біохімія печінки», «ФБ нирок та сечоутворення», «ФБ нервової тканини», «ФБ м'язової тканини», «ФБ сполучної тканини» і «Біохімія онкогенезу».

Для методичного забезпечення нового курсу було підготовлено тексти і презентації відповідних лекцій, кілька демонстраційних лабораторних робіт, контрольні матеріали; на учбовий посібник «Функціональна біохімія» одержані рекомендації МОН України і він має вийти з друку до наступного навчального року. Наш підручник «Біологічна хімія» (2000 р.) містить розділ, присвячений біохімії крові і деяких тканин організму.

Перший досвід викладання ФБ у НФаУ свідчить про суттєвий інтерес студентів щодо специфіки функціональної організації найважливіших органів і тканин організму людини, перебігу метаболічних процесів у них в нормі та за відомих порушень, а також можливостей фармакокорекції патологій вже відомими та новими перспективними препаратами. За результатами оцінювання успішності навчання у минулому навчальному році відмінні та добрі оцінки одержали близько 45%, а незадовільні — лише 3% студентів.

Кафедра працює над удосконаленням названого курсу, намагається логічно зв'язати головний курс загальної біохімії з ФБ з метою формування у майбутніх фахівців фармації цілісного уявлення про метаболізм у людини, його регуляцію і можливості корекції патологій лікарськими засобами.

**ВИКОРИСТАННЯ ДОСЯГНЕНЬ СУЧАСНОЇ БІОХІМІЇ
І МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ У ПРОЦЕСІ РОЗГЛЯДУ ПИТАННЯ
ПРО СПІВВІДНОШЕННЯ ЕВОЛЮЦІЙНОГО ВЧЕННЯ
ТА ХРИСТІЯНСЬКОГО БОГОСЛОВ'Я У ВИКЛАДАННІ КУРСУ
РЕЛІГІЄЗНАВСТВА ДЛЯ ПРИРОДНИЧИХ ФАКУЛЬТЕТІВ
УНІВЕРСИТЕТІВ**

ДАНИЛОВА Т. В.

*Національний університет біоресурсів
і природокористування України, Київ;
e-mail: danilova_tv@ukr.net*

Публікацію Чарльзом Дарвіном «Походження видів шляхом природного добору, або збереження обраних рас у боротьбі за життя» (1859) можна назвати поворотним пунктом в історії науки. Подорожуючи на кораблі «БІГЛЬ» як натураліст, Дарвін вивчав деякі аспекти рослинного й тваринного світу Південної Америки, Галапагоських островів і Тьєрра-дель-Фуєго, яким неможливо було дати тлумачення в межах існуючих теорій. Після повернення з подорожі Дарвін дав пояснення власним спостереженням у книгах «Походження видів» і «Походження людини», в яких провідною була думка, що всі природні види, в тому числі й людина, є результатом довгого і складного процесу біологічної еволюції.

Як це не парадоксально, але опоненти теорії еволюції з'явилися ще до виникнення самої теорії. У 1802 р., ще до народження Чарльза Дарвіна, англіканський священник *Уільям Пелі* опублікував книгу «Натуральна теологія», в якій вперше висунув щось на кшталт теорії під назвою «Розумне конструювання» (*Intelligent Design*), присвячену креаціонізму (*create — створювати*). Пелі писав, що органи кожної живої істоти у світі ідеально відповідають одне одному та умовам життя. Досягти цього можна було лише завдяки початковому задуму якогось Конструктора. І саме таким, на думку священника Пелі, міг бути тільки Бог. Тільки Богові під силу зробити так, аби у мавпи був хвіст, який допомагає їй стрибати з гілки на гілку, а у людини — п'ять пальців, які допомагають їй утримувати різні знаряддя. І взагалі традиційна християнська думка розглядала людину як таку, що є вищим творінням у природі.

Натомість, теорія Дарвіна припускала, що людська природа розвивалася поступово, впродовж тривалого часу, і що між людьми і тваринами неможливо віднайти фундаментальну різницю. Він писав: «Людина не є запланованим вінцем творіння, але подібно до всіх інших тварин, зайняла своє місце під сонцем внаслідок поступового видоутворювального процесу. Бог не створював людину за своїм образом і подобою, але схожість *Homo sapiens* з приматами не випадкова: ми з ними походимо від загального виду-предка і за еволюційними мірками є близькими родичами». Соціальні й богословські наслідки такого світогляду були очевидні для Дарвіна, коли він писав «Походження видів».

«Походження видів» завдало удару у самий «мозок» християнства — Дарвін атакував «Буття», і релігія, яка ледве пристосувалась до геліоцентричної системи світу і законів Ньютона, не отямилася від дарвінівського удару до тепер. Нокаутувана Дарвіном церква сьогодні вкладає величезні ресурси у пропаганду «креа-

ціонізму» та у критику еволюції по Дарвіну. Так, наприклад, результати наукових відкриттів, які на сьогодні є беззаперечними і набули статусу класичних, у деяких творах церковних авторів позиціонуються як спірні й гіпотетичні концепції, що засновані не на емпіричних даних, а виключно на атеїстичних переконаннях зловмисних ворогів релігії, а відтак — і необов'язкових для сприйняття віруючими вченими взагалі.

Але ж ці самі наукові відкриття можна й потрібно розглядати як найпереконливіші свідчення еволюції. Спираючись на них, можна реконструювати історію життя на Землі, довести, що всі сучасні види пов'язані нерозривними нитками спорідненості і що все життя на Землі — *єдине філогенетичне дерево*. Так, біохімія ХХ ст. продемонструвала фундаментальну подібність на молекулярному рівні між усіма живими організмами — від бактерії до людини. Не тільки нуклеїнові кислоти містять спадкову інформацію про всі живі організми, але й код, який передає цю інформацію від основної послідовності ДНК через РНК до амінокислотної послідовності у протеїнах, є одним й тим самим для всіх організмів. Молекулярна біологія надала інше переконливе підтвердження еволюційних зв'язків завдяки можливості порівняння амінокислотних послідовностей у протеїнах з однаковими функціями (наприклад, цитохрому с) у різних організмів. Ознаки нашого еволюційного минулого назавжди вписано в наш геном. Ми всі є носіями генетичних ознак викопних тварин, адже близько 45% нашої ДНК складається із рухливих елементів, включаючи копії ендегенних ретровірусів, які інтегрувалися в наш організм як «вічні пасажери», засвідчуючи нашу єдність з рештою живого світу.

Саме сучасні досягнення біохімії, молекулярної біології і генетики спонукали Католицьку церкву в останні роки змінити своє ставлення до теорії Ч. Дарвіна. В офіційній газеті Ватикану минулого року, напередодні 200-річчя від дня народження Чарльза Дарвіна і 150-річчя від моменту опублікування його теорії, з'явилася стаття, в якій йдеться про принципову підтримку теорії еволюції Церквою. *«Еволюції є місце у християнській теології, а ідеї Дарвіна не суперечать християнському віровченню»*, — наголошується у статті. Більш того, віднині доктрину божественного створення світу Ватикан вважає «культурним феноменом» і не більше того. Таким чином, Дарвін, по суті, забезпечив політичну перемогу науки над церквою і верховенство світських поглядів над релігійними в усіх сферах інтелектуальної діяльності. Цю еволюцію поглядів Церкви, яка відбувалася паралельно з науковими відкриттями, слід неодмінно враховувати у викладанні курсу релігієзнавства на природничих факультетах університетів.

ШЛЯХИ ОРГАНІЗАЦІЇ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТІВ

ЕРСТЕНЮК Г. М.

*Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;
e-mail: erst@ukr.net*

У сучасному державному стандарті вищої медичної освіти значна увага приділяється на підготовці фахівців, які поряд із високими професійними знаннями вміють зорієнтуватись у великому інформаційному потоці, здатні постійно по-

новлювати свої знання і володіють новітніми технологіями. Для вирішення таких завдань важливого значення набуває організація самостійної роботи студентів (СРС). Особливо актуальним це питання є зараз, в умовах переходу на нові навчальні плани за кредитно-модульною системою навчання.

Для вивчення дисципліни «Біологічна та біоорганічна хімія» для студентів медичного факультету відведено із 270 годин 70 годин на СРС, стоматологічного факультету – із 270 годин – 130 год (48%). Зважаючи на великий обсяг СРС, вважаємо за необхідне звернути увагу на кілька основних моментів щодо організації цього виду діяльності, контролю за ним, методичного забезпечення, ролі викладача в цьому процесі. Зміст СРС визначається навчальною програмою дисципліни, в якій передбачена як самостійна аудиторна робота під керівництвом викладача, так і самостійна позааудиторна робота. У процесі вивчення біологічної хімії, на нашу думку, важливими є спонукальні інтереси до оволодіння певними практичними навичками. Виходячи з цього, на кафедрі біологічної та медичної хімії імені Г. О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету приділяється велика увага методичному забезпеченню. Обов'язковим елементом методичних матеріалів є чітко сформульовані навчальні цілі заняття із зазначенням необхідного рівня теоретичних знань та практичних навичок, ретельно складені алгоритми виконання лабораторних робіт, детальні інструкції до проведення експериментальних досліджень, наведені відомості стосовно клініко-діагностичного чи медико-біологічного значення досліджуваного параметра. Під час підготовки до щоденних занять студентів орієнтують на опрацювання першоджерел літератури, складання схем, заповнення таблиць, підготовку протоколів лабораторних робіт. Однак, найефективнішою формою СРС є індивідуальна робота із студентами, які прагнуть до оволодіння новітніми методами наукових досліджень, активно працюють у студентських наукових гуртках. Особлива увага приділяється контролю знань студентів з розділів чи окремих тем, які виносились на самостійне вивчення. Банк тестових завдань та ситуаційних задач, який створений на кафедрі, дозволяє студентам перевірити рівень знань, сприяє самоосвіті, що власне і лежить в основі підготовки висококваліфікованого фахівця майбутнього.

РОЛЬ І ЗНАЧЕННЯ БІОХІМІЇ В СИСТЕМІ ПІДГОТОВКИ ЛІКАРІВ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ТЕХНОЛОГІВ ТВАРИННИЦТВА

ЖЕГУНОВ Г. Ф., ПОКУСАЙ Г. Г.

*Харківська державна зооветеринарна академія МАП України;
e-mail: zhegunov@mail.ru*

Біологічна хімія має велике значення в базовій підготовці ветлікарів та технологів тваринництва і є невід'ємною частиною їхньої природонаукової освіти. Біохімія вивчає різні структури властиві живим організмам, хімічні реакції, що відбуваються на клітинному та організменному рівнях. Основою життя є сукупність хімічних реакцій, що забезпечують обмін речовин. Таким чином, біохімію можна вважати основною мовою всіх біологічних наук. Формування у майбутніх

спеціалістів сільського господарства розуміння молекулярної природи окремих фізіологічних процесів, біохімічних основ патогенезу хвороб, дії лікарських препаратів на метаболічні процеси в організмі, суті хімічних перетворень компонентів сільськогосподарського виробництва в ході технологічної обробки є невідкладною потребою сьогодення. Сучасний лікар ветеринарної медицини повинен бути підготовленим як теоретично, так і практично для використання об'єктивних біохімічних методів у діагностичній діяльності та для контролю за перебігом хвороби. Для цього у Харківській зооветеринарній академії курс «Біологічної хімії з основами фізичної і колоїдної хімії» читається на кафедрі хімії та біохімії для студентів II курсу протягом двох семестрів. Традиційна форма викладання біохімії на кожному факультеті поєднується зі спрямованістю біохімічної інформації щодо кожної спеціальності. Так, на факультеті ветеринарної медицини під час викладання біологічної хімії практично в кожному розділі дисципліни наводяться особливості біохімічних процесів у різних видів сільськогосподарських тварин, а на технологічному факультеті — основи біохімії різних видів сільськогосподарської продукції (м'яса, молока, яєць, шерсті та ін.). Ці знання дозволяють студентам у подальшому ефективніше оволодівати знаннями в курсі «Клінічної біохімії», яка читається на факультеті ветмедицини на III курсі вже на кафедрі клінічної діагностики. Таким чином, майбутні лікарі ветмедицини набувають ґрунтовні теоретичні знання і можливості використання їх у практичній діяльності. При вивченні курсу біохімії застосовується модульно-рейтингова технологія, яка стимулює студентів для регулярної роботи протягом всього навчального року, дозволяє ефективніше засвоювати учбовий матеріал, а також об'єктивніше оцінювати знання. Ще одна важлива спрямованість викладання курсу біохімії в академії — це сформувати у майбутніх спеціалістів сільського господарства уявлення про вплив сільськогосподарської продукції на безпеку життєдіяльності людини, бо «лікар лікує людину, а лікар ветеринарної медицини — людство». Поглиблення біохімічної підготовки лікарів ветмедицини, технологів у сучасних умовах глобальної хімізації технологічних процесів при виготовленні продуктів харчування є дуже актуальним. Ці знання потім поглиблюються, конкретизуються в курсах ветеринарної і санітарної експертизи продуктів тваринництва, токсикології і відповідають сучасним вимогам підготовки висококваліфікованих спеціалістів сільського господарства.

ВИКОРИСТАННЯ КОМП'ЮТЕРНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ПРОЦЕСІ ВИКЛАДАННЯ БІОХІМІЇ В ДОННМУ ім. М. ГОРЬКОГО

ЖУРАВЕЛЬ Т. О., БАКУРОВА О. М., СКОРОБОГАТОВА З. М.,
БОГАТИРЬОВА О. В., БОРЗЕНКО Б. Г., ТУРСУНОВА Ю. Д.

*Донецький національний медичний університет ім. М. Горького, Україна;
e-mail: zhuravel75@mail.ru*

Системне впровадження засобів навчання за допомогою комп'ютерних технологій є потребою, яка на цей час загострилась із приєднанням до Болонського процесу. На жаль за кількістю і якістю використання комп'ютерних технологій вітчизняний студент суттєво відрізняється від європейського студента.

Кафедра біохімії ДоННМУ має власну WEB-сторінку в загальній системі порталу університету. На сайті представлені матеріали, що стосуються навчальних планів та розробки лекцій. Студентам пропонується ознайомитися з текстом лекцій заздалегідь. Це дає змогу лекторові донести до слухачів більш розгорнутий матеріал із визначеної теми. Але широке застосування таких засобів гальмується низькою зацікавленістю наших студентів та недосконалою технічною базою.

Таким чином, на сьогоднішній день створення якісної web-сторінки кафедри стає необхідністю, так як постала необхідність підвищення рівня медичної освіти та підвищення якості майбутніх фахівців.

ОСОБЛИВОСТІ ВИКЛАДАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ У ЗВ'ЯЗКУ З ПЕРЕХОДОМ НА КРЕДИТНО-МОДУЛЬНУ СИСТЕМУ

КЛЕПАЧ Г. М.

*Дрогобицький державний педагогічний університет
імені Івана Франка, Україна;
e-mail: pavlishko@yahoo.com.ua*

Запровадження європейських стандартів підготовки педагогічних кадрів та інтеграції вітчизняних вищих навчальних закладів до єдиного європейського університетського простору потребує суттєвих змін у викладанні дисциплін.

Згідно з новим навчальним планом у 2008–2010 рр. «Біотехнологія» читається для студентів біологічного факультету спеціальності «ПМСО. Біологія і хімія» після вивчення генетики та молекулярної біології обсягом 54 години (1 модуль/1,5 кредити ECTS), що недостатньо для освоєння передбаченого навчальною програмою матеріалу студентами. Крім того, цей курс віднесено до дисциплін, що читаються за вибором студента, тоді як у ньому вивчаються важливі напрями сучасної біологічної науки – генетична, клітинна, протеїнова і метаболічна інженерія тощо, без яких формування повноцінних знань і поглядів сучасного біолога буде не повним. Відсутність підручника українською мовою з біотехнології також обтяжує вивчення цього курсу студентами, що визначає першочерговість вирішення цієї проблеми.

Для успішного та активного засвоєння знань з біотехнології було розроблено лекції з використанням мультимедійної системи, що дозволяє подавати достатньо складний і об'ємний матеріал курсу у вигляді схем, таблиць, ілюстрацій; було розроблено методичні вказівки до практичних занять, які містять короткі теоретичні відомості, різноманітні завдання для аудиторної та самостійної роботи студентів, короткий словник термінів; розроблено індивідуальні навчально-дослідні завдання; сформовано оновлений пакет навчально-методичної літератури; планується розробити методичні вказівки для самостійної роботи студентів. Новою формою, яка спонукає студентів до підготовки та активної роботи на практичних заняттях, є оцінювання їхніх відповідей у балах, що також позитивно впливає на формування якісного рівня знань.

З метою виявлення ефективності методів навчання, які використовуються на заняттях із біотехнології, нами було проведено анкетування та визначення рівня знань серед студентів у 2007–2009 рр. Як засвідчили одержані результати, студенти найкраще знають матеріал, який вони вивчали на заняттях (показники успішності (ПУ) – 70–90%). Проте завдання, які виносяться на самостійну роботу, виконуються не повністю. Лише 50% студентів частково виконують поставлені завдання (ПУ – 40–60%), пояснюючи складністю матеріалу, що вказує на необхідність відведення більшої кількості аудиторних годин на вивчення курсу.

СИСТЕМНИЙ ПІДХІД ДО ВИКЛАДАННЯ БІОХІМІЇ – ОСНОВА ЯКОСТІ ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ

МАРЧЕНКО М. М., КОПИЛЬЧУК Г. П.

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

Мета роботи – підвищення якості знань студентів шляхом оптимізації навчального процесу з курсу «Біохімія» як основного в циклі природничо-наукової, професійної та практичної підготовки за напрямом «Біологія».

Одне із завдань для досягнення поставленої мети вирішується через структуру лекційного курсу, цілісність і завершеність якого зумовлюється логічною тематичною взаємообумовленістю. Зокрема, матеріал кожної попередньої лекції створює підґрунтя для розуміння наступної теми.

На якість знань великою мірою впливає логіка побудови робочої програми, яка розроблена нами таким чином, щоб заставити студента працювати системно, що надає можливість уникнення випадковості під час атестації та зводить до мінімуму суб'єктивізм.

Весь обсяг матеріалу поділено на модулі за змістом, кожен з яких у свою чергу складається з навчальних елементів, що поєднують в собі різноманітні види навчальної діяльності (виконання та захист лабораторних робіт, поточне тестування, колоквиум). Кожен вид діяльності, кожен навчальний елемент і кожен модуль оцінюються згідно з розробленими критеріями. Для отримання оцінки «задовільно» студент має набрати мінімум 60% від максимальної кількості балів за всі змістові модулі. На модуль-контроль відводиться 20% балів. Такий малий відсоток на модуль-контроль і основна кількість балів, яку студент набирає впродовж семестру, і є тим важливим стимулом, який примушує його свідомо працювати на кінцевий результат.

Інноваційним аспектом є переведення 25% аудиторних годин в індивідуальну роботу із занесенням її в розклад. Це дозволяє вивільнити час викладачів і студентів для науково-дослідної роботи з використанням набутих теоретичних знань (отриманих на лекціях і семінарах) і практичних навиків, (засвоєних на лабораторних заняттях) для вирішення поставлених наукових завдань.

Така логічна, системна робота забезпечує ґрунтовні, осмислені знання студентів з «Біохімії», які репрезентують високу якість навіть через певний проміжок часу на ректорських контрольних зрізах.

РОЛЬ БІОХІМІЇ У ПІДГОТОВЦІ ФАХІВЦІВ ФІЗИЧНОГО ВИХОВАННЯ І СПОРТУ

МОНАСТИРСЬКА С. С.

*Дрогобицький державний педагогічний університет
імені Івана Франка, Україна;
e-mail: monastyrskiytaras@rambler.ru*

Система підготовки фахівців у галузі фізичного виховання і спорту передбачає вивчення медико-біологічних дисциплін, серед яких важливе місце належить біохімії. Сучасна теорія і практика фізичного виховання потребують глибоких знань біологічних основ життєдіяльності людини, а саме особливостей обмінних процесів у процесі занять фізичними вправами. Виходячи з цього, студенти – майбутні вчителі фізичного виховання – повинні мати розуміння впливу фізичних навантажень на організм дитини, адаптації організму до фізичних вправ. У зв'язку з цим галузевими освітніми стандартами для підготовки фахівців із фізичного виховання передбачено вивчення дисципліни «Біохімія» та «Біохімія спорту». Викладання цих дисциплін здійснюється на основі кредитно-модульної системи, яка передбачає систематичне навчання студентів впродовж вивчення дисциплін.

Великий досвід викладання біохімії свідчить, що студенти зазнають значних труднощів у засвоєнні біохімічних процесів, оскільки мають низький рівень знань з біології та хімії. Враховуючи відсутність в освітньо-професійній програмі будь-яких змістовних модулів з хімії, викладання біохімії вимагає попереднього ознайомлення студентів із багатьма хімічними поняттями, а саме рН розчинів, буферні системи, особливості структури органічних молекул.

За вивчення основних біологічних макромолекул особлива увага звертається на роль вуглеводів, протеїнів і ліпідів в енергозабезпеченні м'язів, основні шляхи їхнього метаболізму.

Одним з найважливіших завдань «Біохімії» є вивчення особливостей біохімічних процесів і механізмів їхньої регуляції під час фізичного навантаження.

Студенти мають опанувати не тільки хімічний склад живих клітин, а й розуміти, що у процесі фізичного навантаження змінюється обмін речовин та енергії, а також механізми їхньої регуляції.

Закономірності обміну речовин у процесі спортивної діяльності вивчаються в курсі «Біохімія спорту».

При цьому студенти знайомляться з механізмами енергозабезпечення м'язової діяльності, вивчають молекулярні основи адаптації організму до фізичних навантажень; вікові особливості перебігу біохімічних процесів; метаболічні основи втоми і відновлення після виконання фізичних вправ; механізми розвитку швидкісно-силових якостей; виявляють уміння передбачати ефективність тренувального процесу.

Знання біохімічних закономірностей фізичного розвитку дозволить майбутнім фахівцям не тільки правильно вирішувати питання відбору дітей для занять спортом, але й зберегти здоров'я і працездатність їх у майбутньому.

Отже, фахівцю фізичного виховання і спорту для практичної діяльності необхідні глибокі знання функціональної біохімії.

ВИКЛАДАННЯ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ. ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ ФАХОВОЇ ПІДГОТОВКИ КЛІНІЧНИХ ПРОВІЗОРІВ

ПІШАК В. П., БУЛИК Р. Є.

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

Рух вищої медичної школи України по шляху Болонського процесу значною мірою залежить від формування нових концептуальних засад підготовки медичних фахівців та модернізації навчання у вищій медичній школі. Реформування вищої медичної освіти в Україні, на засадах Болонської декларації має на меті привести рівень підготовки фахівців у відповідність до європейських критеріїв. Для досягнення успіхів щодо вдосконалення системи підготовки висококваліфікованих спеціалістів необхідно підвищити якість освітньої діяльності вищих медичних навчальних закладів. Якість освіти особливо вирізняється ступенем відповідності теоретичних знань та вмінь практичного використання їх у професійній діяльності.

Головним завданням курсу за вибором «Сучасні проблеми молекулярної біології», що викладається на першому році навчання, є формування у студентів — клінічних провізорів — уявлення про універсальні принципи функціонування основних молекулярно-біологічних процесів у клітинах різних організмів — від бактерій до вищих еукаріотів. Основні розділи курсу висвітлено детально з використанням найсучаснішої доступної інформації з метою поєднання набутих знань із подальшим опануванням професійно орієнтованих дисциплін, зокрема біохімії, генетики і мікробіології.

Потрібно також зазначити, що з метою стандартизації навчального процесу необхідне створення ліцензійних навчально-контролюючих комп'ютерних програм, уніфікованих для всієї України. У зв'язку із значною кількістю студентів в академічних групах (12–15 осіб) викладачеві не завжди вдається проконтролювати чітко виконання студентом практичних навичок. Залишається поза увагою робота студентів у бібліотеці.

Реформа у вищій медичній освіті може забезпечити високу якість підготовки фахівців європейського рівня та конкурентоспроможність їх, реалізацію передових інформаційних технологій навчання. Це, у свою, чергу, сприятиме відкритості системи підготовки медичних спеціалістів, запозиченню прогресивного у світовій та вітчизняній науці і практиці.

ОСОБЛИВОСТІ МЕТОДОЛОГІЇ ВИКЛАДАННЯ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ У СТУДЕНТІВ ПЕРШОГО КУРСУ ФАКУЛЬТЕТУ ПІДГОТОВКИ ІНОЗЕМНИХ ГРОМАДЯН, ЩО НАВЧАЮТЬСЯ АНГЛІЙСЬКОЮ МОВОЮ

СИРОТИНСЬКА І. Д., РОМАНЮК А. Л., ЕРСТЕНЮК Г. М.

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

Біоорганічна хімія — важлива дисципліна в підготовці студента-медика. Разом з іншими дисциплінами вона формує науковий світогляд майбутнього спеціаліста, забезпечує підготовку до оволодіння практичними навичками. Вивчення біоорганічної хімії є початковим етапом засвоєння біологічної хімії, згідно з новим навчальним планом, перший модуль дисципліни «Біологічна та біоорганічна хімія».

Специфіка викладання цієї дисципліни для студентів-медиків полягає в тому, що поряд із розглядом теоретичних питань, акцентується увага на процесах, які відбуваються в живих організмах і мають важливе значення для медицини. Викладання має бути наповнене прикладами застосування тих чи інших явищ у медичній практиці. У зв'язку з цим, вивчення біоорганічної хімії вимагає ґрунтовної базової підготовки, а для студентів-іноземців ще й доброго знання мови.

Нами представлено досвід викладання біоорганічної хімії студентам першого курсу факультету підготовки іноземних громадян Івано-Франківського національного медичного університету з англійською мовою викладання, що навчаються за спеціальністю «Лікувальна справа». Основні проблеми, які виникають під час проведення занять: істотна різниця в рівні базової підготовки між студентами — громадянами різних країн та рівень мовної підготовки студентів.

Виходячи з цього, важливим є створення відповідного методичного забезпечення. Нами було розроблено адаптовані методичні вказівки, які відрізняються від україномовних наявністю прикладів постановки і розв'язування ситуаційних завдань, спрощеним та більш схематичним викладом методики виконання лабораторної роботи, а також конкретизацією питань для самостійної роботи студентів. Підготовка лекційного матеріалу проводилась таким чином, щоб студенти могли отримати відповіді на всі питання до самостійної роботи, що містяться в методичних вказівках до практичних занять.

Вжиті нами заходи дозволили підвищити ефективність викладання та вивчення біологічної хімії студентами-іноземцями з англійською мовою навчання, про що свідчить успішність студентів після переходу їх на другий курс.

**ВДОСКОНАЛЕННЯ ФАХОВОЇ ПІДГОТОВКИ
СТУДЕНТА-МЕДИКА ШЛЯХОМ ВИКЛАДАННЯ
КУРСУ «КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ»**

СКЛЯРОВ О. Я., КОБИЛІНСЬКА Л. І.

*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: lesya8@gmail.com*

Для підготовки фахівця медичного вузу високого рівня, формування його клінічного мислення і світогляду, глибокого розуміння процесів, які відбуваються в організмі, необхідне цілісне уявлення про патологічний процес та організм хворого. Тому технологія навчального процесу можлива лише за умов тісної міждисциплінарної горизонтальної інтеграції. Сьогодні зростає роль медико-біологічних дисциплін у системі підготовки фахівців-медиків, що обумовлено стрімким розвитком інноваційних генно-інженерних та біотехнологій, нанотехнологій і застосуванням їх у медичній практиці, створенням нових фармпрепаратів, біодобавок, компонентів харчових продуктів тощо; біохімічні підходи все ширше використовують для постановки діагнозу та з'ясування патогенезу різноманітних захворювань.

Прикладом такого міжпредметного медико-біологічного зв'язку є предмет «Клінічна біохімія», який базується на теоретичних засадах загального курсу «Біохімії» і тісно пов'язаний з клінічними дисциплінами. Мета викладання «Клінічної біохімії» — формування у студентів розуміння біохімічних процесів під час подальшого вивчення патохімії захворювань, обґрунтування необхідності проведення клініко-лабораторних досліджень, закладання основ взаєморозуміння між лікарем і провізором для забезпечення ефективної лікарської та фармацевтичної опіки хворого, вміння використовувати моделювання певних патологій у наукових дослідженнях. Предмет «Клінічна біохімія» поглиблює знання з основ патологічної біохімії, удосконалює вміння використовувати клініко-біохімічні показники лабораторного обстеження, діагностики, лікування та контролювати віддалені результати, обґрунтовувати біохімічні основи регуляції метаболізму фармацевтичними препаратами за патології, використовувати клініко-біохімічні показники у разі вживання різних фармацевтичних препаратів.

Відсутність курсу «Клінічної біохімії» відокремлює теоретичне розуміння біохімічних механізмів від клінічної інтерпретації результатів обстеження та практичної діяльності лікаря. Введення предмету «Клінічна біохімія» у програму підготовки спеціалістів на IV курсі, після того як студенти вивчили загальні клінічні дисципліни, дозволило б ширше розглянути біохімічні основи патологічних процесів. Позитивним кроком у цьому напрямку є включення у 2004 р. предмету «Клінічна біохімія» у програму підготовки студентів-фармацевтів за спеціальністю «Клінічна фармація». На вивчення предмету на IV курсі виділено 54 години: з них 16 год лекційного матеріалу, 38 год практичних занять. Доцільним було би ввести предмет «Клінічна біохімія» і для студентів медичного та стоматологічного факультетів, що дасть можливість оволодіти знаннями щодо патохімічних процесів в організмі з метою діагностики їх та корекції фармацевтичними препаратами, проведення моніторингу та передбачення прогнозу перебігу хвороби. Це дозволить

підготувати спеціаліста із глибокими базисними знаннями широкого спектра медичних проблем, який володіє вміннями та навичками, які необхідні у роботі з різноманітними категоріями хворих, підвищити рівень клінічного мислення майбутнього лікаря чи провізора.

Алфавітний покажчик

- Абакумова Е. С. 70, 241
Абдураманова Ә. Р. 222
Абраїмова О. Є. 223
Авдєєв С. С. 16
Алексєєва І. В. 264
Александрова К. В. 37, 338
Анісімова С. І. 40
Андріанова К. С. 39
Андріанов С. І. 39
Андрійчук О. М. 224
Андрєєва Л. В. 309
Андрейко Г. П. 239
Андронаті С. А. 323
Андронаті С. Ф. 300
Андруховець В. М. 202
Анисимов В. Ю. 94
Антоненко Л. В. 99, 141
Антоненко Л. О. 225
Антонюк В. О. 262
Антонюк С. І. 285
Антонюк Т. М. 226
Антоняк Г. Л. 294
Апостол Н. А. 321
Апуховська Л. І. 4, 7, 90
Арешков П. О. 16
Афіцька К. І. 178
Бабій С. О. 42
Бабаєва О. І. 41
Бабийчук Л. А. 227
Багдасарова І. В. 133, 135
Байдан Е. И. 119
Байляк М. М. 228
Бакурова О. М. 88, 345
Балінт Л. І. 43
Балинська О. В. 16
Барботько О. О. 69
Барбухо Е. В. 232
Басюл Е. В. 230
Бацманова Л. М. 231
Бачинська Н. Ю. 25
Бачинський П. П. 332
Безусяк А. І. 90
Беленічев І. Ф. 37
Белоглазов В. А. 45
Бердишев А. Г. 46, 63, 69
Берегова Т. В. 73, 178
Береговий С. М. 178
Бибчук Е. В. 232
Біленький С. А. 37, 338
Білець М. В. 47
Білий Р. О. 122, 170
Білоконь Л. Є. 37, 338
Білявська Л. О. 248
Білявська Н. О. 330
Блажчук І. С. 40
Блох К. 213
Бобак Я. П. 23
Бобик В. І. 87, 103
Богатирьова О. В. 48, 345
Богорад-Кобельская Е. С. 75
Божков А. И. 261
Бойко Н. 308
Бойко Т. Ю. 315
Бойко Ю. А. 6
Бондаренко В. А. 302
Бондаренко Л. Б. 40
Боріков О. Ю. 48, 61
Борецкая М. А. 234
Борецький В. Ю. 205
Борецький Ю. Р. 205
Борзенко Б. Г. 48, 88, 345
Борзова Н. В. 240
Борисенко М. Б. 176
Бориско Г. А. 98
Бразалук О. З. 129
Бродська А. Ю. 84
Бродяк І. В. 32, 49
Брюзгіна Т. С. 145
Будняк О. К. 252
Будняк О. Л. 252
Будрейко О. А. 50
Булик Р. Є. 349
Бурда В. А. 121
Бурлака Ю. Б. 101
Бухтіярова Н. В. 37
Буцяк В. І. 218

Бучко О. М. 306
Вагіна І. М. 87
Варбанець Л. Д. 240, 279
Варди П. 213
Васіна Л. М. 216
Василевская А. И. 316
Василевська В. М. 7
Васильєва І. М. 157
Васильків О. Ю. 242
Васильченко О. А. 333
Великий М. М. 7
Вельчинська О. В. 235
Вембер В. В. 254
Верхуша В. В. 211
Верьовка С. В. 18, 258
Видмаченко А. В. 51, 52
Винницька Б. О. 23
Виноградова К. Г. 236
Виноградова Р. П. 339
Вільчинська В. В. 235
Вінніков А. І. 8
Вовк С. О. 249
Водопьянова Л. А. 244
Волкова А. В. 95
Волкова Ю. В. 159
Воловельская Е. Л. 302
Володіна Т. Т. 53, 194
Волотовский И. Д. 20
Волошанська С. Я. 340
Волошина О. С. 40
Волощенко М. В. 341
Волощук Н. І. 54
Воробець Д. З. 55
Воробець З. Д. 294, 334
Воробйова Г. М. 177
Вороніна А. К. 40
Вороніна Л. М. 85, 341
Воронкова О. С. 8
Вотякова И. А. 207
Врынчану Н. А. 79
Вятоха А. Н. 88
Гаврик А. Г. 253
Гавриляк В. В. 56
Гаділія О. П. 189
Гайда Г. З. 237
Гайда Л. М. 12
Галаган Н. П. 192, 208, 260

Галенко О. П. 176
Галенова Т. І. 104
Галкин Б. Н. 286
Галкин Н. Б. 57, 286
Гамалій І. М. 315
Ганусова Г. В. 238
Гассо В. Я. 260
Гаффари Сахби Бен Мохамед
Монсеф 131
Герасименко И. М. 278
Гергелюк Т. С. 151
Гержикова В. Г. 11, 312
Гладка Н. І. 198
Гладкая Е. А. 239
Гнатюк Т. Т. 243
Гоголь С. В. 86
Голіченко В. В. 63
Голобородько А. В. 159
Головенко М. Я. 59
Головко А. М. 246
Голуб Н. Б. 202
Гончаренко М. С. 60, 239
Гончар М. В. 237, 269
Горідько Т. М. 63, 67, 69, 111
Горбатюк О. Б. 203, 212, 217
Горбач Т. В. 127
Горбенко Н. І. 61
Гордієнко Ю. А. 62
Горина О. Л. 70, 241
Горлачова П. М. 64
Горницька О. В. 192
Грінченко Є. М. 69
Грабовецкая Е. Р. 159
Гранон С. 25
Григор'єва М. В. 65
Григор'єва Н. П. 280
Грицай Д. В. 115
Гриценко Н. А. 284
Гриценко П. Г. 26
Грищенко В. А. 30, 179, 191
Гришук В. І. 192
Громовой Т. Ю. 303
Грузіна Т. Г. 246, 254, 304
Грюк І. Б. 66
Губський Ю. І. 9
Гудзенко О. В. 240
Гудзь Є. А. 67

Гузик М. М. 68
Гулавский В. Т. 117
Гула Н. М. 46, 63, 67, 69, 111
Гулевский А. К. 70, 241
Гуль А. Л. 80
Гунчак А. В. 309
Гусак В. В. 242
Давыдов В. В. 72, 159
Данілова А. О. 252
Данілова О. І. 252
Данилова В. М. 339
Данилова Т. В. 342
Даниш Т. В. 276
Данкевич Л. А. 243
Дасюкевич О. Й. 73
Дацюк Л. О. 312
Дашченко А. В. 283
Дворщенко К. О. 73
Декина С. С. 10
Демаш Д. В. 193
Демків І. Я. 74
Демченко О. П. 257
Демьяненко С. А. 116
Денисова О. Н. 244
Деркач Є. А. 245
Дзвонкевич Н. Д. 53, 194
Дибкова С. М. 246
Диль О. Д. 236
Дмитренко В. В. 16
Дмитренко М. П. 194
Дмитрук К. В. 205
Долгая Е. В. 75
Долинский Г. А. 193
Домашнева Н. А. 76
Донченко Г. В. 101, 148, 247
Донченко Л. И. 77, 171
Драговоз І. В. 248
Драгоева Е. Г. 95
Дрель В. Р. 11, 32
Дробінська О. В. 12
Дубей І. Я. 78, 103, 264, 267
Дубей Л. В. 78
Дубовецький А. С. 247
Дубовская Л. В. 20
Дудар І. О. 108
Дудикова Д. М. 79
Дудин А. М. 48

Дудка І. В. 141
Дудок К. П. 80
Дуніч А. А. 283
Дух О. І. 249
Дьомшина О. О. 42
Дюк М. 49
Ерстенюк Г. М. 81, 136, 137, 187, 343, 350
Ершова О. Н. 95
Євдокимова Н. Ю. 13
Єгорова Д. Є. 147
Єлісєєва О. П. 82
Єльський В. М. 14
Ємець І. М. 177
Єрмішев О. В. 281
Єршов А. В. 16
Єсьман Д. В. 263
Жадан В. Н. 83
Жебеленко Я. Г. 88
Жегунов Г. Ф. 244, 344
Жиденко А. А. 232
Житкевич Н. В. 243
Жовнір В. А. 177
Жолобак Н. М. 300
Жуков В. І. 287
Жуков О. Д. 46
Журавель Т. О. 48, 345
Жураковська М. В. 144
Журомський В. С. 33
Заїченко О. 308
Заїчко Н. В. 15, 89, 197
Зав'ялов В. П. 84
Загайко А. Л. 85, 341
Загоруйко В. А. 11, 312
Закальська О. М. 237
Закальський А. Є. 237
Залєток С. П. 86
Заліпукін О. Д. 250
Запорожченко О. В. 252
Захарієва З. Є. 252
Захаренко М. О. 251
Звягіна Т. В. 48
Звягіна Т. С. 61
Звягинцева О. В. 207
Здіорук М. І. 32
Зелений С. Б. 87
Зінкевич М. В. 187
Зозуля Ю. П. 16

- Золотарьова О. К. 313
Зубова О. Л. 227
Зубов П. М. 227
Зуйков С. А. 48, 88
Зябліцев С. В. 14, 160
Иванов Е. Г. 70, 241
Иванович Г. В. 305
Іваниця В. О. 57, 253
Іванова О. В. 61
Іващенко Г. В. 254
Івчук В. В. 88
Ігнатенко С. В. 296
Ігнатова Т. Б. 99
Іщук О. П. 220
Йолкіна Н. М. 105
Йолтухівський М. М. 89
Кавсан В. М. 16
Калініченко О. В. 91
Каліщук О. А. 134
Калашніков А. В. 90
Калашніков О. В. 90
Калмыкова Н. 98
Кальченко В. І. 26
Камінський Д. В. 82
Кандюк Р. П. 256
Канюк М. І. 257
Капустян Л. М. 87
Каракис С. Г. 94, 95
Карасева Т. Л. 92
Карацуба Т. А. 40
Карлова Н. П. 13
Карпов Л. М. 94, 95
Карпов О. В. 258
Кастрикiна Т. Ф. 96
Кацев А. М. 206, 222, 307
Кашкалда Д. А. 50, 97, 98
Кваско Е. Ю. 278
Квашніна Л. В. 99
Кирилів Б. Я. 309
Кисців В. О. 309
Кіндрок Н. Л. 46
Кітам В. О. 125
Кіт Ю. Я. 17, 122, 170
Кліменко К. П. 101
Кліх Л. В. 281
Кленіна І. О. 76, 100, 165
Кленов О. О. 86
Клепач Г. М. 269, 346
Клечак І. Р. 225
Клименко Н. М. 102
Клименко Н. Ю. 260
Клименко О. Ю. 260
Клименко Ю. А. 102
Климишин Н. І. 121
Климова Е. М. 207, 261
Клись Ю. Г. 18
Ключівська О. Ю. 147, 218, 262
Кнава О. Э. 117
Князева М. В. 19, 41
Коберник А. А. 112
Кобилінська Л. І. 351
Коваленко В. М. 40
Коваленко И. Ф. 274
Коваль В. О. 282
Коваль Л. М. 25
Коваль М. І. 154
Ковзун О. І. 181
Ковтун С. І. 208
Козлов А. 103
Козлова И. А. 234
Козлова О. В. 292
Колеснева Е. В. 20
Колесник Є. О. 26
Колихалова С. Ю. 223
Коломийчук С. Г. 119
Комісаренко А. Г. 288
Комісаренко С. В. 25, 26
Компанець І. В. 110, 180
Компаниец А. М. 274
Коновалова Е. О. 239
Конон А. Д. 297
Кононський О. І. 263
Конопельнюк В. В. 104
Коношенко С. В. 105
Копильчук Г. П. 347
Коптелов В. А. 302
Корда М. М. 21, 106
Коржов В. И. 52
Коржов М. В. 83
Коритко З. І. 107
Корній Н. С. 122
Корниенко Е. М. 162
Коробкова К. С. 79, 310
Король Л. В. 108, 109, 133, 135

-
- Корольова Д. С. 30, 191
Короткий О. Г. 110
Короткий Ю. В. 79
Костенко О. М. 264
Костюк К. Є. 328
Костюченко Н. М. 181
Косякова Г. В. 63, 111
Котляр І. П. 183
Коцюмбас І. Я. 320
Кошель Т. А. 26
Крісанова Н. В. 37, 338
Кравченко Г. Б. 85
Кравченко И. А. 6, 112
Кравченко О. О. 12
Красільнікова О. А. 85
Кривов'яз О. С. 137
Криворотенко Д. В. 264
Крисюк І. П. 194
Кровякова М. Т. 265
Кролевецька Н. М. 299
Кубрак О. І. 242
Кубышкин А. В. 113
Кудик В. Г. 126
Кудря М. Я. 144
Кузів Я. Б. 267
Кузьмак І. П. 106
Кузьменко О. І. 101, 247
Кулініч А. О. 62
Куліцька М. І. 74
Кулагина В. В. 45
Кульчицький О. К. 22
Курас Л. Д. 268
Курбанов А. К. 13
Курбатова І. М. 251
Курдиш І. К. 209
Курліщук Ю. В. 23
Кутас О. М. 288
Кухарський В. М. 178
Куцяба В. І. 269
Кучма В. М. 225
Кушнір О. Ю. 132
Лавинская Е. В. 261
Лавренчук О. В. 133
Лавренюк Т. И. 95
Лавриненко Е. А. 247
Лазарев В. Г. 234
Лазаренко І. А. 270
Лебединский А. С. 115
Лебедь І. С. 97
Левішко А. С. 279
Левашова Н. С. 176
Левицкая Г. В. 131
Левицкий А. П. 116, 117
Левицький Є. Л. 9
Левченко Е. М. 116
Левчук Н. І. 118
Леонова І. С. 292
Леонова Н. О. 248
Летяго А. В. 97
Леус Н. Ф. 119
Лизак О. О. 205
Лиманська О. Ю. 210, 271, 272
Лиманський О. П. 210, 271, 272
Лисенко Т. Г. 300
Лисовская В. И. 305
Литвиненко О. М. 30, 179, 191
Лихацький П. Г. 184
Лихмус О. Ю. 25
Лихота О. Б. 59
Ліманська Н. В. 253
Лісничук Н. Є. 74
Логаза Л. В. 268
Лоскутова Т. О. 165
Луговської Е. В. 26
Лукашєня О. С. 181
Лукаш Л. Л. 120
Лукьянова Н. Ю. 193
Лутченко В. А. 275
Луцик О. Д. 82
Луцюк М. Б. 15, 130
Лушак В. І. 161, 228, 242, 335
Лысак Ю. С. 274
Людвік Т. А. 141
Люта М. Я. 121
Магорівська І. Б. 122, 170
Магура И. С. 75
Мадич С. Є. 276
Мазур О. Є. 123
Мазур С. П. 213
Мазур Ю. І. 123
Макар І. А. 56
Макаренко О. А. 116, 117
Макарчук В. А. 124
Макоїд О. Б. 37, 338

- Максимович І. Я. 306
Максимович Я. С. 12
Максимчук О. В. 125
Малиновская Л. П. 79
Малиновська В. Г. 126
Малишева Т. А. 16
Малишева М. К. 96
Малый К. Д. 45, 265
Малярчик И. О. 57
Мамчур В. Й. 62
Мандрик С. Я. 87
Марієвський В. Ф. 299
Мартынова С. Н. 127
Марценюк О. П. 28
Марченко М. М. 196, 277, 347
Маслак Г. С. 129
Мась О. В. 224
Матвеева Н. А. 278
Матвиенко Е. В. 97
Мацелюх О. В. 279
Мацьопа І. В. 280
Машевська О. В. 128
Машейко І. В. 129
Машталер О. М. 124
Медынская О. И. 127
Мельник А. В. 130
Мельник Е. В. 98
Мельникова Н. М. 270, 281
Метелицына И. П. 119, 131
Мехед О. Б. 282
Мешишен І. Ф. 132, 280
Мигаль Л. Я. 108, 133, 134, 135, 140
Микоша О. С. 181
Миронова К. О. 48
Мишуніна Т. М. 91
Мищенко О. В. 79
Мізін В. І. 11, 312
Мітіна Н. 308
Мішланова Ш. 28
Міщенко Л. Т. 283
Моїсеєва Л. Г. 164
Моисеева Н. Н. 70, 241
Монастирська С. С. 348
Мороз О. М. 80
Морозова А. П. 284, 285
Морозова Е. С. 211
Морозова Л. М. 87
Морозова Р. П. 148
Москвін М. 308
Мусієнко М. М. 231
Мушина Т. Н. 271
Мухлис Исмаил Абедалабас 286
Назаренко В. І. 257, 336
Наконечна О. А. 287
Нево Е. 269
Негруцька В. В. 264, 267
Недзвецький В. С. 176
Недошитко Х. Ю. 154
Нелина И. Н. 97
Непорада К. С. 64
Нечитайло Л. Я. 136
Никитченко Ю. В. 143
Никифорова Т. М. 99, 141
Николин А. М. 137
Никольченко А. Ю. 70, 241
Ніженковська І. В. 138
Нікітіна Л. Д. 50
Нікітаєв С. В. 134, 140
Ніколаєв Ю. С. 212
Ніколаєнко В. Б. 141
Нікольська В. В. 110
Нікуліна Г. Г. 134, 139, 140
Новікова О. А. 260
Новікова С. М. 22
Новикова Н. С. 6
Оболенська М. Ю. 28
Огородник Л. Є. 288
Оканенко О. А. 226
Окорокова Г. І. 288
Олар В. В. 9
Олейнікова С. П. 61
Олейник Т. В. 119
Омельченко Л. І. 141
Омельченко О. Є. 142, 175
Ониськова О. В. 99
Орловський О. А. 86
Осійчук О. В. 303
Остаповець Л. І. 290
Остапченко Л. І. 12, 35, 110, 180, 189
Остапчук Ю. 308
Острівка О. І. 106
Островська Г. В. 183
Охріменко С. М. 291
Оченашко О. В. 115, 143

-
- Павленко Т. О. 144
Павлова М. В. 217
Павлова Т. Д. 19
Павловський В. І. 323
Падалко В. І. 292
Палагіна І. А. 144
Паливода О. М. 247
Пальчиковська Л. Г. 264
Панічкіна О. І. 63
Панішина Н. Г. 145
Панчак Л. В. 262
Парамонова К. В. 147, 156
Пасічна Е. П. 148
Пахомова Е. Ю. 57
Пашинська О. С. 54
Пентюк Н. О. 150
Пеньковская Н. А. 265
Перепелиціна О. М. 151
Перетятко Ю. В. 49, 293
Перский Е. Э. 211
Першин О. І. 294
Петік А. В. 39
Петербурзький В. Ф. 134, 139
Петренко А. Ю. 115, 143, 190, 213, 295
Петренко Ю. А. 213
Петросян А. Л. 152
Петрунь Л. М. 53, 194
Пилипенко С. В. 110
Пирогов В. О. 140
Пирог Т. П. 296, 297
Письменецька І. Ю. 223
Підручна С. Р. 106
Пірогова В. Г. 182
Пішак В. П. 349
Пішуліна С. В. 14
Платонова Т. М. 30, 191, 192
Погорелая Н. Х. 75
Погрібний П. В. 78, 87, 103
Покотило О. С. 154
Покровський В. О. 272
Покусай Г. Г. 344
Полішко Т. М. 8, 88, 332
Поліщук Л. В. 299, 300
Поліщук О. В. 267
Поликарпова А. В. 155
Полохіна К. В. 156
Попова Л. Д. 157
Попова Н. М. 53, 194
Порохнавець Л. Є. 158, 200
Потапенко Р. І. 22
Потебня Г. П. 173
Привроцька І. Б. 154
Приходченко В. О. 198
Прищепа І. В. 176
Прокопенко В. А. 247
Прокопенко Т. Г. 265
Прокопюк О. В. 19
Радіонова Н. В. 53
Рамазанов В. В. 302
Ребриев А. В. 303
Редчук Т. А. 303
Редько А. В. 159
Резніченко Л. С. 246, 254, 304
Рибальченко В. К. 183
Рибальченко Г. К. 25
Римар В. І. 16
Ровенко Б. М. 161
Рожко О. Т. 125
Розуменко В. Д. 16
Рой А. О. 209
Романенко М. І. 338
Романець К. Л. 28
Романовська І. І. 10, 303, 323, 324
Романько М. Є. 304
Романюк А. Л. 350
Росохацька І. В. 125
Россаханова Л. Н. 117
Россихин В. В. 162, 199
Ростока Л. М. 43, 163
Рубан Н. М. 299
Рудая Е. В. 321, 322
Руденко В. В. 159
Рудик М. П. 173
Рудько Н. П. 37, 338
Руснак Е. М. 305
Рыбалко Л. М. 160
Рябенко Д. 103
Рязанцев В. В. 227
Рясний В. М. 164
Сагариц В. А. 95
Салавеліс А. Д. 252
Салига Н. О. 306
Самаруха І. А. 202
Самойленко О. А. 86

-
- Сансон М. 16
Сатарова Т. М. 223
Сафронюк С. Л. 307
Сварчевська О. З. 306
Свищ Я. С. 166
Севастьянов О. В. 303, 323, 324
Сеймівський Д. А. 134, 139
Селиванская И. А. 116, 117
Семенішина К. О. 323
Семенов С. С. 165
Семен Х. О. 82
Семенченко О. А. 190
Сеник С. В. 263
Сеньків Ю. 308
Сербіна І. Є. 134, 139, 140
Сергєєва Ж. Ю. 253
Сеспугліо Р. 311
Сибіль М. Г. 166
Сибірна Н. О. 11, 32, 49, 80, 121, 293, 312
Сибірний А. А. 23, 205, 220, 269
Сивоплясова А. В. 318
Сидорик Л. Л. 87, 103, 125
Сидорович І. Б. 214
Синяченко О. В. 160
Сиротинська І. Д. 350
Сідорик Л. Л. 177
Сірко Я. М. 309
Сірокваша О. А. 8
Січкарь С. В. 310
Склярів О. Я. 33, 123, 351
Скок М. В. 25
Скопенко О. В. 73
Скоробогатова З. М. 88, 345
Скорохід Н. 308
Скорихода Т. 308
Скулачев В. П. 190
Сломінський О. Ю. 39
Смукот О. В. 237
Согіна Т. М. 76, 124
Солдаткін О. О. 311
Солдаткін О. П. 311
Соляник І. В. 176
Сорокін А. В. 252
Сосимчик И. А. 190
Спивак Т. В. 98
Старанко У. В. 312
Старикович Л. С. 80
Старикович М. О. 170
Стасик О. В. 23
Стасюк Н. Є. 237
Стельмах Л. М. 96
Степанова А. В. 48, 61
Степанов С. С. 313
Степаншина В. Н. 271
Степура А. В. 171
Стеценко С. О. 287
Стогній Н. А. 111
Стойка Р. С. 122, 147, 170, 262, 308
Сторож Л. А. 329
Стояновська Г. М. 309
Стреха И. С. 314
Стрибуль Т. Ф. 274
Сукач А. Н. 115
Супонько Ю. В. 172
Сулова Н. О. 21
Сухова Л. Л. 159
Танасієнко О. А. 173
Таран І. В. 54
Таран К. В. 48, 61
Таран Н. Ю. 226, 231
Тарасенко Д. О. 296
Тарасенко К. В. 174
Тарасенко Л. М. 47, 175
Тертишна О. В. 89
Тихомиров А. О. 176
Тихонкова И. 103
Ткаченко Т. А. 270
Ткаченко Я. В. 177
Товкач Ф. І. 253
Тодор І. М. 101, 193, 247
Тодосійчук Т. С. 314
Токарчук Л. В. 283
Толстанова Г. М. 35, 178
Толстяк Я. Ф. 122
Томчук В. А. 30, 179
Торгало Є. О. 180
Тронько М. Д. 181
Тугай А. В. 315
Тугай Т. І. 214, 315, 316
Тупицька О. М. 317
Турсунова Ю. Д. 345
Турияница І. М. 43, 163
Ульберг З. Р. 246, 254, 304
Устенко Н. В. 144

Ушакова Г. О. 185
Ушкалов В. О. 246, 304
Фабрі З. Й. 126, 182
Фалетров Я. В. 318, 326
Фартушок Н. В. 186
Федевич О. М. 177
Федевич Ю. М. 186
Федорко Н. Л. 252
Федорович А. М. 121
Федорович Д. В. 205, 220
Федотова А. А. 222
Федякова О. І. 320
Фера О. В. 182
Ференц І. 49
Фесенко Т. В. 272
Филиппова Т. О. 286
Філінська О. М. 183
Філіпова Н. В. 50
Філіппович В. П. 247
Фіра Л. С. 184
Фляк А. І. 217
Фоміна С. П. 133, 135
Фоменко О. З. 185
Фомочкина И. И. 113
Фролова Н. С. 321, 326
Хаврона О. П. 186
Харченко О. І. 189
Хмель Т. О. 67
Хопта Н. С. 187
Хорушкин В. В. 322
Худа Л. В. 216
Цапенко Ж. Н. 92
Цапенко М. В. 203, 217
Цедик В. В. 317
Цепко Н. Л. 306
Церковняк Л. С. 209
Цехмістренко О. С. 263
Цивінська М. В. 262
Цисельський Ю. В. 116, 117
Цігнадзе Т. П. 332
Цубер В. Ю. 188
Цудзевич Б. О. 104
Чайка В. О. 189
Часовський К. С. 177
Чащин М. О. 125
Чебан Л. М. 277
Червяк М. М. 197

Череватова С. Х. 50
Черенок С. О. 26
Черепенко А. А. 119
Черкас А. П. 82
Черкашина Д. В. 190
Чернадчук С. С. 252
Черниш І. Ю. 339
Чернишенко В. О. 30, 191
Чернишенко Т. М. 192
Чернов Є. О. 62
Черноусова Н. М. 223
Чернявський Е. А. 314, 321
Чехун В. Ф. 193
Чоп'як В. В. 122
Чугуз О. О. 165
Чумак А. А. 46
Чумак С. О. 50
Чупашко О. Я. 334
Шамелашвілі К. Л. 165, 322
Шамро Н. Р. 66
Шандренко С. Г. 194
Шарикіна Н. І. 235
Шаховський А. М. 278
Шаяхметова Г. М. 40
Швед А. Д. 264
Швец В. Н. 72
Шевцова А. І. 62
Шевченко Н. С. 97
Шевченко О. П. 129
Шевчук Т. А. 296, 297
Шелифіст А. Є. 277
Шемедюк Н. П. 218
Шемякин И. Г. 271
Шепельова І. А. 245
Шершун Г. Г. 106
Шестеренко Є. А. 323
Шестеренко Ю. А. 324
Шиманський І. О. 68
Шкуматов В. М. 314, 318, 322, 326
Шкурашівська С. В. 81
Шляхтіна Є. 308
Шмараков І. О. 196, 219
Шовкун С. А. 69
Шоно Н. А. 341
Штатько О. І. 197
Штеменко Н. І. 42, 88, 147, 156, 65,
172, 322, 337

- Шушуа Іліас 105
Щенявский И. И. 70, 241
Щувайло О. М. 311
Щурська К. О. 202
Юкало А. В. 327
Юкало В. Г. 328, 329
Юрженко Н. М. 145
Яблонська С. В. 183
Яворська С. І. 21
Ягмур В. Б. 76
Ягупова А. С. 235
Якімова О. В. 330
Якименко Т. І. 198
Яковенко Б. В. 282
Яковенко М. Г. 162, 199, 291
Яковенко Н. В. 162, 199
Яковлева Л. М. 288
Якубенко О. Д. 14
Яланецький А. Я. 11, 312
Ямборко А. В. 230
Ямшанова О. Ю. 183
Яремій І. М. 132
Яремчук А. В. 265
Ярошенко Т. Я. 21
Ястребова О. В. 310
Ястремська О. О. 158, 200
Яцишин В. Ю. 205, 220
Andrieieva G. S. 38
Basaraba O. 44
Bayraktar V. N. 229
Bobak Ya. 44
Bogatyrova O. O. 5
Boiko N. 233
Bolgova L. 195
Borisova T. 259
Bozhko N. V. 255
Burlaka A. P. 114
Chernyshenko T. M. 298
Chivanov V. D. 255
Chumak V. V. 146, 266
Chunikhin A. 259
Chupashko O. I. 58
Demchenko A. P. 204
Didenko G. V. 169
Donchenko G. V. 114, 153
Drobot L. 44
Dzyadevych S. V. 325
Efanova O. 195
Falfushynska H. I. 215, 319
Fomenko I. S. 167
Gerashchenko D. 44
Gerashchenko G. V. 5
Gnatyshyna L. L. 215, 319
Golubev O. P. 319
Gumenyuk V. 71
Gyori J. 319
Gzhegotsky M. R. 58
Havrylyuk D. Ya. 146, 266
Horak D. 233
Kalinkevich A. N. 255
Kalinkevich O. V. 255
Kasatkina L. 259
Kashuba V. I. 5
Khyzhnyak S. V. 169
Kindya V. I. 255
Kluchivska O. 233
Kovalskyy D. B. 298
Kozlova N. 44
Krisanova N. 259
Krupak V. I. 146, 266
Kuchmenko O. B. 38, 114, 153
Kuchmerovska T. M. 24
Lehka L. V. 266
Lesyk R. B. 146, 266
Limanskaya O. Yu. 273
Limanskii A. P. 273
Lootsik M. D. 301
Lototskaya E. 71
Matselyukh B. P. 29
Mezhuev O. 195
Milovanova H. O. 27
Mitina N. 233, 266
Mkhitaryan L. S. 153
Moskvin M. 266
Mudra A. Y. 215
Panasyuk N. B. 167
Panchuk R. R. 29, 146, 266
Pasichnyk A. 44
Patalakh I. I. 149
Petukhov D. M. 38, 114, 153
Platonov M. O. 298
Pogrebnoy P. 195
Potapov M. I. 301
Prassolov V. S. 31

Prohorova A. O. 169
Shagotova T. 233
Shestakova T. 195
Shivanyuk A. 34
Shkotova L. V. 325
Shlyakhtina Ye. 233
Shtemenko N. I. 168
Shuvayeva G. 44
Shymanskyy I. 36
Sivko R. 259
Sklyarov O. Ya. 167
Skorik O. D. 168
Skorokhoda T. 233, 266
Slenzka K. 259
Slyvchuk Yu. I. 27
Soldatkina M. 195

Sorokina L. V. 169
Sponarova D. 233
Stepanova L. I. 169
Stoika R. S. 29, 146, 233, 266
Stoliar O. B. 215, 319
Sudakov O. O. 298
Tolmachev A. A. 34
Trikash I. 71
Tsudzevych B. O. 27
Volodko N. 44
Wu X. 273
Yevstratova I. N. 153
Zaichenko O. 233, 266
Zaitsev S. 195
Zhang J. 273
Zhuravel E. 195