

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені ОЛЕСЯ ГОНЧАРА
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
ДЗ «ДНІПРОПЕТРОВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ»
УКРАЇНСЬКЕ БІОХІМІЧНЕ ТОВАРИСТВО**

**П'ЯТА МІЖНАРОДНА НАУКОВА КОНФЕРЕНЦІЯ
АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ СУЧАСНОЇ БІОХІМІЇ,
КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ФІЗІОЛОГІЇ**
Матеріали конференції

1-2 жовтня, 2020
Дніпро, Україна

**MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE
OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY
MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
DNIPROPETROVSK MEDICAL ACADEMY
UKRAINIAN BIOCHEMICAL SOCIETY**

**THE 5th INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
CURRENT PROBLEMS OF BIOCHEMISTRY,
CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY**

Program and abstracts
1-2 October, 2020
Dnipro, Ukraine

УДК 577.156+612.015+591.1+579

Друкується за ухвалою вченої ради Біолого-екологічного факультету Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара (протокол № 9 від 07 вересня 2020 р.)

Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології: матеріали V Міжнародної наукової конференції, 1-2 жовтня 2020 р., м. Дніпро, Україна/ за заг. ред. Ушакової Г.О. – Дніпро: видавництво «Ліра», 2020 – 174 с.

ISBN

У збірнику подаються результати теоретичних, прикладних та наукових досліджень вчених із широкого спектру проблем сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології. Наукове видання розраховане на студентів, аспірантів, викладачів, науковців.

Редакційна колегія: Ушакова Г.О. (відповідальний редактор),
Довбань О.О., Ковальчук Ю.П.

Всі матеріали друкуються в авторській редакції. За достовірність фактів, власних імен та інші відомості відповідають автори публікації. Думка редакції може не збігатися з думкою авторів.

© Колектив авторів, 2020

© Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, 2020

ОРГАНІЗАЦІЙНИЙ КОМІТЕТ

Голова: проф. Ушакова Галина Олександрівна
Тел. +38 0676323613
E-mail: ushakova_g@ukr.net

Заступник голови: проф. Севериновська О.В.
Тел. +38 0505657381
E-mail: eseverinovskaya@gmail.com

Члени оргкомітету:

Дробахін О.О. (Дніпро, Україна), Оковитий С.І. (Дніпро, Україна), Байдаш Г. (Анкара, Туреччина), Агджа К.А. (Бінгол, Туреччина), Пієржиновський С.Г. (Люнд, Швеція), Білоусова Т.В. (Лос Анжелес, США), Бойко М. (Беер-Шева, Ізраїль), Скібо Г.Г. (Київ, Україна), Мінченко О.Г. (Київ, Україна), Перський Є.Є. (Харків, Україна), Шевцова А.І. (Дніпро, Україна), Маслак Г.С. (Дніпро, Україна).

Технічний оргкомітет:

Кириченко С.В., Дьомшина О.А., Хоменко О.М., Горіла М.В., Скорик О.Д., Ковальчук Ю.П., Довбань О.О., Муравйова Д.В., Павленко Г.О.

Адреса оргкомітету:

Кафедра біохімії та фізіології
Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна 72, Дніпро, 49010, Україна

ORGANISING COMMITTEE

Head: Prof. Galyna Ushakova
Tel: +38 (067) 6323613
E-mail: ushakova_g@ukr.net

Vice of Head: Prof. Olena Severynovska
Тел. +38 0505657381
E-mail: eseverinovskaya@gmail.com

International Advisory Committee:

Drobakhin O.O. (Dnipro, Ukraine), Okovytyy S.I. (Dnipro, Ukraine), Baydas G. (Ankara, Turkey), Ağca C.A. (Bingol, Turkey), Pierzynowski S.G. (Lund, Sweden), Bilousova T.V. (Los Angeles, USA), Boyko M. (Beer-Sheva, Israel), Skibo G.G. (Kiev, Ukraine), Minchenko O.G. (Kiev, Ukraine), Perskyj E.E. (Kharkov, Ukraine), Shevthova A.I. (Dnipro, Ukraine), Maslak G.S. (Dnipro, Ukraine)

Technical committee

Kyrychenko S.V., Dyomshyna O.O., Khomenko O.M., Gorila M.V., Skorik O.D., Kovalchuk Y.P., Dovban O.O., Muraviova D.V., Pavlenko G.O.

Address of Organising Committee

Dept. Biochemistry and Physiology,
Oles Honchar Dnipro National University
72 Gagarin Ave., Dnipro, 49010 Ukraine

ЗМІСТ

5 ПРОГРАМА

18 ТЕЗИ

Усні доповіді (за хронологічним порядком)

61 ТЕЗИ

Стендові доповіді (за алфавітом першого автора)

170 АЛФАВІТНИЙ ПЕРЕЛІК

CONTENTS

5 PROGRAM

18 ABSTRACTS

Oral presentations
(in chronological order)

61 ABSTRACTS

Posters
(in alphabetical order, first author)

170 Author index

THE SCIENTIFIC PROGRAM
THE 5th INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
“CURRENT PROBLEMS OF BIOCHEMISTRY, CELL BIOLOGY AND
PHYSIOLOGY”
1-2 October, 2020
Dnipro, Ukraine

Thursday, October 01

10.00-10.30 Official opening of Conference

WELCOME TO THE CONFERENCE

Acting rector of DNU, Prof. Oleg Drobakhin

The Vice-rector of scientific work of DNU, Prof. Sergiy Okovytyy ,

Dean of Faculty of Biology and Ecology, Prof. Olena Severynovska,

Head of Dept. of Biochemistry and Physiology, Prof. Galyna Ushakova

PLENARY SESSION: NEUROBIOLOGY

Chairmen: Prof. Galyna Ushakova, Prof. Galyna Skibo

10.30-10.45

NEUROSPECIFIC PROTEINS AS MARKERS FOR POSTTRAUMATIC SYNDROME

Galyna Ushakova

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

10.45-11.00

PECULIARITIES OF THE HIPPOCAMPAL STRUCTURE IN APOE^{-/-} MICE FED DIETS WITH DIFFERENT FAT COMPOSITION

Galyna Skibo, Tetiana Kovalenko, Iryna Osadchenko, Dmytro Shepilov, Nittaya Marungruang, Olena Prykhodko, Galyna Ushakova

Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Lund University, Lund, Sweden

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

11.00-11.20

EVALUATION OF CELL-TYPE SPECIFIC EXOSOMES IN ALZHEIMER'S DISEASE

Tina Bilousova, Mikhail Melnik, S. Whitaker Cohn, Varghese John, and Karen Gylys

University of California, Los Angeles

11.20-11.45

THE LEVELS OF THE AUTOPHAGY MARKERS IN TG MICE, WHICH EXPRESS A POINT MUTANT (S9A) OF HUMAN GSK-3 β

Victor Dukat, Anita Sidhu and Tetyana Duka

The Department of Neurology, Department of Biochemistry and Molecular & Cellular Biology,

The Georgetown University Medical Center, Washington, DC, USA

11.45-12.00

AZOBENZENE/NITRAZEPAM-BASED LIGHT-CONTROLLABLE MODULATORS OF THE INHIBITORY BRAIN RECEPTORS

Galyna Maleeva, Daniel Wutz, Karin Rustler, Alexandre Gomila, Alba Nin-Hill, Mercedes Alfonso-Prieto, Petra Scholze, Franck Peiretti, Carme Rovira, Burkhard Koenig, Pau Gorostiza, Piotr Bregestovski

Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), Barcelona, Spain

University of Regensburg, Institute of Organic Chemistry, Regensburg, Germany

ICREA/UB, Departament de Química Inorgànica i Orgànica, Barcelona, Spain

Computational Biomedicine, Institute for Advanced Simulations IAS-5 and Institute of Neuroscience and Medicine INM-9, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, Germany

Department of Pathobiology of the Nervous System, Center for Brain Research, Medical University Vienna, Vienna, Austria; Aix Marseille Université, INSERM 1263, INRA 1260, C2VN, Marseille, France

Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona, Spain

Network Biomedical Research Center in Biomaterials, Bioengineering and Nanomedicine (CIBER-bbn)

Aix-Marseille University, INSERM_1106, INS, Institut de Neurosciences des Systèmes, Marseille, France

Department of Normal Physiology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Institute of Neurosciences, Kazan State Medical University, Kazan, Russia

12.00-12.15

NOVEL PROTEIN TARGETS OF THIAMINE AND ITS DERIVATIVES IN NERVOUS TISSUE

Olha Mezhenka, Andrii Rebriev, Yuliya Parkhomenko

Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

12.15-12.45 Poster presentation Coffee break

PLENARY SESSION: MEDICAL BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY

Chairmen: Prof. Olena Severynovska, Ganna Maslak

12.45-13.00

INDICATORS OF FOLLICULAR LIQUID AT THE DEVELOPMENT OF OVARIAN HYPERSTIMULATION SYNDROME

Oleksandra Bekasova, Liudmyla Omeliancky, Vira Kopyika

Zaporizhzhia National University, Zaporizhzhia, Ukraine

13.00-13.15

CHANGING LEUCOCYTIC ELASTASE ACTIVITY IN CHRONIC KIDNEY DISEASE

Vasylchenko V., Korol L., Kuchmenko O.

State Institution "Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Laboratory of Biochemistry, Kyiv, Ukraine; National University of Kyiv-Mohyla Academy, Kyiv, Ukraine

13.15-13.30

BIOCHEMICAL BASIS FOR THE FORMATION AND PROGRESSION OF FIBROUS TISSUES

Serhiy Verevka, Natalia Voroshylova, Natalia Obernikhina
SE "Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine
Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

13.30-14.30 Lunch

14.30-15.00

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN LUNG FIBROSIS

Iuliia Gordiienko, Oksana Karasova, Victoriia Rodionova, Alla Shevtsova
*SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine",
Dnipro, Ukraine*

15.00-15.30

FEATURES OF THE MECHANISMS OF THROMBUS FORMATION IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASIAS AND ATHEROTHROMBOSIS

Tatiana Nikolaienko-Kamyshova
*SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine",
Dnipro, Ukraine*

15.30-15.45

EXPRESSION OF MICRORNA IN DANIO RERIO EMBRYOS UNDER ACTION OF SINGLE-WALLED CARBON NANOTUBES

Yulia Yefimova, Olga Rudnytska, Dariia Tsymbal, Oleksandr Minchenko
Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

15.45-16.00

GENOTOXIC EFFECT OF SINGLE-WALLED CARBON NANOTUBES

Olha Rudnytska, Dmytro Minchenko, Dariia Tsymbal, Oleksandr Minchenko
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

16.00-16.15

MOLECULAR MECHANISMS OF INTERACTION OF HYPOXIA WITH ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS SIGNALING PATHWAYS

Myroslava Sliusar, Dmytro Minchenko, Olha Luzina, Olena Khita, Oleksandr Minchenko
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

16.15-16.30

IRE1 KINASE AS AN IMPORTANT REGULATOR OF GENE EXPRESSION UNDER ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS

Olena Khita, Oleksandr Minchenko
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

16.30-16.45

THE ROLE OF ERN1 SIGNALING PATHWAY IN REPROGRAMMING OF HYPOXIC EFFECTS

Oleksandr Minchenko, Dariia Tsymbal, Olena Khita, Dmytro Minchenko, Yulia Viletska, Oksana Hnatiuk, Serhiy Danilovskyi, Oksana Ratushna
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

16.45-17.00

ADAPTOR PROTEIN RUK/CIN85 IS A POTENTIAL DRIVER OF METABOLIC REPROGRAMMING IN BREAST CANCER CELLS

Iryna Horak, Nely Latyshko, Olha Hudkova, Kateryna Tokarchuk, Tetiana Kishko, Iryna Krysiuk, Olha Khudiakova, Tetiana Skaterna, Liudmyla Drobot
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

17.00-17.15

PRODUCTS OF OXIDATIVE MODIFICATION OF BIOMOLECULES IN MYOCARDIAL ISCHEMIA

Alla Shevtsova, Victoriya Tkachenko, Iuliia Gordiienko, Olena Shchukina, Olena Koval
SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

17.15-17.30

CHANGES IN EXPRESSION OF FASCIN, VIMENTIN AND E-CADHERIN IN THE COLONIC LAMINA PROPRIA IN RATS ORALLY EXPOSED TO E407a

Anton Tkachenko, Galina Gubina-Vakulyck, Oksana Nakonechna, Ganna Polikarpova, Anatolii Onishchenko
Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

17.15-17.30 Poster presentation

Friday, October 02

PLENARY SESSION: MEDICAL BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY

Chairmen: Prof. Olena Severynovska, Olena Khomenko

9.30-10.00

INFLUENCE OF OVERWEIGHT AND OBESITY ON THE CONDITION OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM AND ENERGY POTENTIAL

Liudmyla Kolinko
Ukrainian Medical Dental Academy, Poltava, Ukraine

10.00-10.30

THE EFFECT OF NEUROTOXIN II ON THE LARGE CONDUCTANCE CATIONIC CHANNELS OF THE NUCLEAR MEMBRANE

Anna Kotliarova, Olena Kotyk, Serhiy Marchenko
Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

10.30-10.45

**EFFECT OF NITROGEN MONOXIDE DEFICIENCY ON THE STATE OF VAGUS
REGULATION OF RAT'S GASTRIC SECRETION**

Anastasiia Halinska, Oleksii Halinskyi, Olena Severynovska

Oles Honchar National University, Dnipro, Ukraine

State institution Institute of Gastroenterology of NAMS of Ukraine, Dnipro, Ukraine

10.45-11.30 Poster presentation Coffee break

PLENARY SESSION: CELL BIOLOGY

Chairmen: Prof. Victor Nedzvetsky, Svetlana Kyrychenko

11.30-12.00

**MURAMYL PEPTIDE ISOLATED FROM LACTOBACILLUS BULGARICUS
INHIBITS GLIOBLASTOMA U373MG CELL MIGRATION AND UPREGULATE
CELLULAR REACTIVITY**

Sidika Acikgoz, Giyasettin Baydas, Can Ali Agca, Victor Nedzvetsky

Bingol Univesrity, Bingol, Turkey, Altinbas University, Istanbul, Turkey

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

12.00-12.15

**THE STUDY OF FIBROBLASTS TO MYOFIBROBLASTS DIFFERENTIATION
POSSIBILITY BY EXTERNAL MECHANICAL STRAIN ACTION *IN VITRO***

Anna Polonska, Yelyzaveta Siervatovska, Kateryna Kot, Yevhen Perskyi, Yurii Kot

V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

12.15-12.30

**PECULIARITIES OF ULTRAMICROSCOPIC STRUCTURE OF BIRDS SPLENIC
CELL POPULATIONS**

Oksana Dunaievskaya, Olga Renkeu, Esther Tarasenko, Kateryna Kuchynska, Ihor Sokulskyi

*Zhytomyr College of Pharmacy, Zhytomyr, Ukraine; Polissya National University, Zhytomyr,
Ukraine*

12.30–12.45

IMPACT OF ELECTRONIC CIGARETTES ON THE VASCULAR ENDOTHELIUM

Tetiana Popova

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

12.45 -13.30

**EXPRESSION OF HUMAN LACTOFERRIN IN TRANSGENIC TOMATO AND
POTATO PLANTS ENHANCE THEIR RESISTANCE TO PHYTOPATHOGENS**

Anastasiia Buziashvili, Alla Yemets

Institute of food biotechnology and genomics NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

13.30-14.30 Lunch

14.30-16.00 Poster presentation

**THE MEETING OF THE STUDENT SCIENTIFIC SOCIETY OF BIOCHEMISTRY
AND PHYSIOLOGY DEPARTMENT**

16.00-17.00 Conclusion speech and closing of the conference

POSTERS

**ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF SCIATIC NERVE DEMYELINATION IN
C57BL/6 TRANSGENIC MICE**

Iryna Govbakh, Volodymyr Rubtsov, Ekaterina Smozhanik
*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine; Taras Shevchenko
National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine; Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of
Ukraine, Kyiv, Ukraine.*

**THE AMOUNT OF CALCIUM-BINDING PROTEIN S100B IN THE BRAIN UNDER
METABOLIC DISORDER**

Boubacar Sylla, Galyna Ushakova
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

**ASTROGLIA REACTION AFTER INTRACEREBRAL HEMORRHAGE IN THE
RAT**

Yuliya Kovalchuk, Ulyana Suvaryan, Olena Dovban, Volodymyr Zhilyuk, Galyna Ushakova
*Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine;
State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine",
Dnipro, Ukraine*

**THE EFFECT OF PYRUVATE ON THE DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF
POST-STROKE DEPRESSION**

Anastasiia Halinska, Olena Severynovska, Matthew Boyko
*Oles Honchar National University, Dnipro, Ukraine;
Department of Anesthesiology and Critical Care, Soroka University Medical Center, Faculty
of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel*

**THE ROLE OF THYROID HORMONES IN THE FORMATION OF SPATIAL
MEMORY IN ACUTE AND CHRONIC STRESS IN RATS OF DIFFERENT AGES**

Demchenko O.M., Rodinsky O.G. Scubitskaya L.D.
Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipro, Ukraine

**THE ROLE OF THYROID HORMONES IN FORMATION OF ADAPTIVE
REACTIONS IN RATS' EARLY ONTOGENESIS**

Olena Demchenko, Oleksander Rodynskyi, Olena Zaichenko
State Institution Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipro, Ukraine

EFFECT OF STRESSORS ON THE FIBRINOLYTIC SYSTEM OF RAT BLOOD

Lina Diachenko, Lylyia Stepchenko
Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

INDICATORS OF THE MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF THE HEART WITH AN INTERMEDIATE EJECTION FRACTION OF THE LEFT VENTRICLE IN MYOCARDIAL INFARCTION WITH VARIOUS CONCOMITANT PATHOLOGIES IN ELDERLY MEN

Polina Kramarenko, Olena Khomenko

Dnipropetrovsk territorial branch of the Small Academy of Sciences of Ukraine, Dnipro, Ukraine

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

THE EFFECTS OF ESTROGEN AND PROGESTERONE ON BLOOD GLUTAMATE LEVELS

Maryna Kucheriava, Olena Severynovska, Matthew Boyko

Oles Honchar National University, Dnipro, Ukraine;

Department of Anesthesiology and Critical Care, Soroka University Medical Center, Faculty of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel

MORPHOLOGICAL FORMS OF CHRONIC GASTRITIS WITH CONCOMITANT DEFEAT OF THE PANCREAS

Ludmyla Skubytskaya, Olena Severynovska, Olexandr Rodinsky.

"Dnepropetrovsk Medical Academy", Dnipro, Ukraine

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

FEATURES OF ALPHA AND BETA ACTIVITY OF EEG AT MEMORIZATION OF ENGLISH WORDS BY MEANS OF MNEMONICS

Yana Usenko, Iryna Kofan, Olena Severynovska

Oles Honchar National University, Dnipro, Ukraine

THE INFLUENCE OF EARLY LIFE STRESS ON DEPRESSIVE, ANXIOUS AND SOCIAL BEHAVIOR OF RATS

Daryna Yakymenko, Olena Severynovska, Matthew Boyko

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine;

Department of Anesthesiology and Critical Care, Soroka University Medical Center, Faculty of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel

ALTERATIONS OF THE ERYTHROCYTE MEMBRANES' BARRIER FUNCTION AT LARYNGEAL CANCER

Burlaka Yu.B., Sukhoveev O.V., Grin N.V.

SE "Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

SE "V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

BIOCHEMICAL INDICATORS OF ORAL LIQUIDS IN SCHOOL-AGE CHILDREN

Marina Gorila

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

SYSTEM POL-AOP IN PATIENTS WITH CANDIDIASIS IN INFLAMMATORY AND EROSION-ULCERATIVE DISEASES OF THE UPPER GASTROINTESTINAL TRACT

Marina Gorila
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

REDOX BALANCE IN THE RAT LIVER UNDER RIFAMPYCIN/ISONIAZIDE INDUCED LIVER DAMAGE

Dmytro Dudynov, Olga Dyomshyna, Volodymyr Zhilyuk
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine
State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF YACON AND GALEGA FFICINALIS L. EXTRACTS

Halyna Hachkova, Lidiya Mishchenko, Natalia Sybirna
Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine

SEMICARBAZIDE INHIBITS THE SIGNS OF BLEOMYCIN-INDUCED PULMONARY FIBROSIS IN RATS

Olha Hudkova, Nely Latyshko, Iryna Krysiuk, Tetiana Kishko, Kateryna Tokarchuk, Natalia Popova, Tetiana Volodina, Serhiy Shandrenko
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

FIBRONECTIN ISOFORMS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC DIFFUSE LIVER DISEASE

Hanna Dolhich, Hanna Maslak, Volodymyr Didenko, Inna Klenina
Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine, Dnipro, Ukraine
State Institution «Institute of Gastroenterology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Dnipro, Ukraine

EFFECT OF IRIDOIDS AND ANTHOCYANINS FROM THE CORNUS MAS L. FRUITS ON THE ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM IN LEUKOCYTES UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Olha Dzydzan, Anna Moroz, Mariana Seniv, Alicja Z. Kucharska, Iryna Brodyak, Natalia Sybirna
Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine
Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Wroclaw, Poland

IMPACT OF MELATONIN ON THE RATS LIVER IN THE MODEL OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Anastasia Kiyan, Olga Dyomshyna, Svitlana Kyrychenko, Volodymyr Zhilyuk
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine
State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

PROTEOLYTIC INDICES AND CONTENT OF α 2-MACROGLOBULIN IN BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH LARYNGOPHARYNX CANCER

Klys' Yu.G., Burlaka Yu.B., Voroshylova N.M., Gryn' N.V.
SE "Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

DYNAMICS OF RAT'S BLOOD COLLECTING SYSTEM INDICES UNDER THE CONDITIONS OF MERCASALYL HYPOTHYROIDISM

Tatiana Kolomiichuk, Olga Makarenko, Ludmila Karabadzha, Julia Karakai
I.I. Mechnikov National University, Odesa, Ukraine

NICOTIC ACID METABOLISM IN RAT TISSUES AFTER SINGLE X-RAY IRRADIATION

Oksana Kokoshkina, Oleksandr Zaporozhchenko
Odesa National University I.I. Mechnikov, Odesa, Ukraine

RATS LIVER MITOCHONDRIA UNDER THE IMPACT OF MELATONIN WITH OF THE TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Maryna Kudryaschova, Olga Dyomshyna, Svitlana Kyrychenko, Volodymyr Zhilyuk
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine
State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

IMMUNOBIOCHEMICAL FACTORS OF OXIDATIVE STRESS FORMATION IN THE CONDITIONS OF CARDIOVASCULAR PATHOLOGY

Lipkan N., Kuchmenko O., Mkhitarian L.
NSC “The M.D. Strazhesko Institute of Cardiology NAMS of Ukraine”, Kyiv, Ukraine;
Mykola Gogol Nizhyn State University, Nizhyn, Ukraine

EFFECT OF THIOSULPHONATE ESTERS ON THE STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN RAT BLOOD

Nataliia Liubas, Ruslana Iskra, Vira Lubenets
Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

EVALUATION OF MICROVASCULATURE AND NECROTIC CHANGES OF THE PROSTATE TUMOR XENOGRAFTS BY DCE-US SUPPLEMENTED WITH THE CONVENTIONAL IMMUNOHISTOCHEMICAL METHOD

Nataliya Lutay
Image-iT AB, Medicon Village, Lund, Sweden

EFFECT OF CARNOSINE ON THE ACTIVITY OF SUPEROXIDE-PRODUCING ENZYMES IN ANIMAL EYE TISSUES IN UVEITIS AND OPHTHALMIC HYPERTENSION

Irina Micheiceva, Nataliya Bondarenko, Sergiy Kolomiichuk
Filatov Institute of the NAMS of Ukraine, Odessa, Ukraine

DESTRUCTION OF THE JUCSTAMEDULAR APPARATUS OF RAT'S KIDNEY UNDER THE DEVELOPMENT OF TYPE II DIABETES

Eugene Murdasov, Svitlana Kyrychenko, Galyna Ushakova
Oles Honchar Dnipro National University

GLYCOSYLATION OF BLOOD LYMPHOCYTES IN INFLAMMATORY PROCESSES

Olha Netronina, Hanna Peleshenko, Hanna Maslak

Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine, Dnipro, Ukraine

INHIBITORY EFFECTS OF METHYLENE BISPHOSPHONIC ACID ON METABOLIC ACTIVITY OF J774 AND RAW264.7 CELL LINES

Pasichna E.P., Labudzynskyi D.O., Veliky M.M.

Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

ENZYMES CATABOLISM ACTIVITY OF PURINE NUCLEOTIDE IN RAT LIVER WITHIN THE CONDITIONS OF INTAKE BY SACCHAROBIOSE AND NUTRITIOUS PROTEINS

Andriana Plytus, Oksana Voloshchuk, Galyna Kopilchuk

Institute of Biology, Chemistry and Bioresources, The CNU, Chernivtsi, Ukraine

CHANGES OF LIPID PROFILE AND LIPID PEROXIDATION PARAMETERS DEPEND ON TYPE AND DURATION OF METABOLIC SYNDROME INDUCTION

Tetiana Petryn, Mariia Nagalievska, Nataliia Sybirna

Department of Biochemistry, Faculty of Biology, Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine

CHANGES IN BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD IN LIVER DISEASES

Olena Skorik

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

FEATURES OF MANUFACTURE OF DECELLULARIZED SCAFFOLD FOR USE IN CARDIAC SURGERY

Anatoliy Sokol, Dmytro Grekov, Alexandr Galkin, Glib Yemets, Nataliia Shchotkina, Iliia Yemets

*PI «Scientific – practical medical center for pediatric cardiology and cardio surgery»
Ministry of health of Ukraine*

National Technical University of Ukraine “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”

WAYS OF TOXIC LIVER DAMAGE BY DRUGS

Lyudmyla Uldyakova, Daryna Polyanska, Olga Dyomshyna

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

ON SOME REGULARITIES OF INTER-PROTEIN RECOGNITION AND THE COMPLICATIONS AND OPPORTUNITIES THEY CREATE IN CORONAVIRUSES PROBLEM

Voroshlyova N.M., Deeva Yu.V., Verevka S.V.

SE “Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

OXIDATIVE STRESS IN THE HYPOCAMPUS OF RATS UNDER ISCHEMIA

Daria Shchepotieva, Hanna Laktionova, Alexandr Mediantsev, Volodymyr Zhilyuk, Galyna Ushakova

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

*State Institution “Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine”,
Dnipro, Ukraine*

CORRELATION ANALYSIS: ENVIRONMENTAL INFLUENCES ASSESSMENT

Olena Zaichenko, Anatoliy Dvoretzkyi
State Institution Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipro, Ukraine
Dnipro State Agrarian-Economic University, Dnipro, Ukraine

**PECULIARITIES OF ASSESSMENT OF BIOGAVAILABILITY OF THE DRUG
«BIOPHOSPHOMAG»**

BY USING THE ELECTROPHORESIS IN THE POLIAMIDE GEL
Liliya Kalachnyuk, Roman Palonko, Oleksiy Arnauta, Viktoria Prus-Kadenko
The National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

ELIMINATION OF COPPER FROM RATS TISSUES WITH USING SORBENTS

Ihor Kalinin
National Pedagogical Dragomanov University, Kyiv, Ukraine

**EVALUATION OF DROUGHT TOLERANCE OF RELATED SPECIES OF WHEAT,
AEGILOPS, AMPHIDIPOIDS AND HYBRIDS BASED ON THEM BY
ELECTROLYTE LEAKAGE METHOD**

Halyna Koliucha, Tetiana Yurchenko, Serhii Pykalo
*The V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat of NAAS Ukraine, Myronivka district, Kyiv
region*

**BIOLOGICAL FEATURES OF THE ETHYLTHIOSULFANYLATE INFLUENCE
ON THE STATE OF GLUTATHIONE ANTIOXIDANT SYSTEM IN RAT KIDNEYS
UNDER THE ACTION OF Cr(VI)**

Bohdan Kotyk, Ruslana Iskra
Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

**AEROPOLUTANTS' INFLUENCE ON ASCORBIC ACID ACCUMULATION IN
SEEDS OF *Sorbus aucuparia L.***

Tetyana Legostaeva, Olha Bila
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

**IMPACT OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVE OF HUMATE NATURE ON
GROWTH, DEVELOPMENT AND PROTECTION OF MEDICAL PLANTS**

Albina Nevidnyk-Pravda 1, Olga Dyomshyna1, Tetyana Platonova
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine
Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

**COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF HUMATE NATURE FEED
ADDITIVE ON THE ANTIOXIDANT STATUS OF THE LIVER AND MUSCLES OF
CHICKEN-BROILERS AND GERBILS**

Lilia Stepchenko, Olga Dyomshyna, Galyna Ushakova
Dnipro State Agrarian-Economic University, Dnipro, Ukraine
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

**HEATING DISTORTS BIOCHEMICAL RESPONSES OF BIVALVE MOLLUSK TO
MIXTURE OF PHARMACEUTICALS AND PESTICIDE**

Vira Khoma, Viktoria Martinyuk, Tetyana Mackiv, Katerina Yunko, Roksolana Formanchuk,
Lesya Gnatyshyna, Oksana Stoliar
Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine;
I.Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

GC-MS DETECTION OF PHTHALATES IN THE EXTRACTS OF CUTICULAR WAX OF GARDEN TREES LEAVES AND FRUITS

Nina Khromykh, Andriy Anischenko, Yuri Lykholat, Olexandr Gaponov, Oleg Didur
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

EVALUATION OF THE SPRING DEVELOPMENT RATE OF HONEY BEE COLONIES UNDER THE INFLUENCE OF "APIPLASMA" DRUG

Liudmyla Yazlovitska, 1Ostap Palamar, 1Vasyl Palamar, 2Vasyl Kravchuk, Roman Volkov,
1Irina Panchuk
Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi, Ukraine
Private entrepreneur, Chernivtsi, Ukraine

COMBINED ACTION CEFTRIAZONE AND OFLOXACIN AGAINST KLEBSIELLA PNEUMONIAE STRAINS ISOLATED FROM THE UROGENITAL TRACT

Bilotserkivska Olena, Sklyar Tetyana
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

CHARACTERISTICS OF H⁺-Ca²⁺-EXCHANGER IN THE INNER MEMBRANE OF MITOCHONDRIA

Hanna Danylovyh, Yuriy Danylovyh, Sergiy Kosterin
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine

LEWIS LUNG CARCINOMA CELLS INDUCES SELECTIVE RESPONSES ACROSS METABOLIC NETWORKS ASSOCIATED WITH SUPPRESSION OF WARBURG EFFECT

Olha Hudkova, Nely Latyshko, Tetiana Skaterna, Denys Gerashchenko, Ruslan Korshun,
Kateryna Tokarchuk, Tetiana Kishko, Iryna Krysiuk, Olha Khudiakova, Iryna Horak,
Liudmyla Drobot
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

EXTRACELLULAR VESICLES PRODUCED BY HUMAN EMBRYONIC KIDNEY HEK293 CELLS WITH UP-REGULATION OF ADAPTOR PROTEIN Ruk/CIN85 ARE CHARACTERIZED BY CHANGED PROTEIN COMPOSITION

Artem Zhyvolozhnyi, Liudmyla Drobot, Seppo J. Vainio, Anatoliy Samoilenko
Palladin Institute of Biochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;
Faculty of Biochemistry and Molecular Medicine, Biocenter Oulu, InfoTech Oulu, University of Oulu, Finland

INFLUENCE OF SYNTHETIC PHOTOSTABLE PYRETROIDS ON ADHESION AND PROLIFERATIVE PROPERTIES OF MESENCHYMAL STEM CELLS OF C57BL/6 MICE IN VIVO

Larysa Kladnytska, Anatoliy Mazurkevych, Volodymyr Dukhnytsky, Victor Tomchuk, Olena Halchynska, Mykola Malyuk, Vitaly Kovpak, Sergiy Velychko, Vasyl Danylov, Yuriy Kharkevych, Roman Bokotko, Taras Savchuk
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

THE EFFECT OF VANADIUM CITRATE ON HEMATOLOGICAL INDICATORS OF MALE AND FEMALE RATS

Halyna Klymets, Ruslana Iskra
Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

METABOLIC STATE OF HUMAN MESENCHIMAL STROMAL CELLS IN THREE-DIMENSIONAL ALGINATE MICROSPHERES

Yulia Nemyrovska, N. Trufanova, Yurii Kot, Olexandr Petrenko
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences, Kharkiv, Ukraine
V. N. Karazin National University, Kharkiv, Ukraine

COMBINED ACTION OF DECASAN WITH ANTIBIOTICS AGAINST PSEUDOMONAS AERUGINOSA STRAINS ISOLATED FROM WOUND SURFACES

Olena Rudas, Tetyana Sklyar
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

ТЕЗИ
Усні доповіді
(за хронологічним порядком)

ABSTRACTS
Oral presentations
(in chronological order)

ПЛЕНАРНА СЕСІЯ 1. НЕЙРОБІОЛОГІЯ PLENARY SESSION 1. NEUROBIOLOGY

NEUROSPECIFIC PROTEINS AS MARKERS FOR POSTTRAUMATIC SYNDROME

Galyna Ushakova

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

ushakova_g@ukr.net

Biochemical markers can be defined as quantitative or (and) qualitative measurements that give information on the pathological state of a subject at a certain time point of development of disease. Biochemical markers of posttraumatic syndrome can be as diagnostic (identifying the nature and cause of disease state), prognostic (informing the likelihood of a person's survival or outcome of a disease), or predictive (identifying individuals who are likely to experience a favorable or unfavorable effect from a treatment (Maas et al., 2017). It is not completely clear how neurospecific proteins may leave the brain and enter the blood depends of trauma and time after. The traumatic brain injury (TBI) cause damage to neurons, glia and the vasculature resulting in the disruption of the BBB, hemorrhage, edema, and cell death. For today, a few mechanisms are discussing: 1) blood brain barrier (BBB) disruption, 2) the release independent of BBB integrity, and 3) the passage through the newly discovered glymphatic system. Long-lasting impact of TBI may lead to development of autoantibodies to neurospecific proteins that may provoke the pathological autoimmunity, and further tissue injury. Post-traumatic syndrome includes a whole complex of neurological and mental complications, molecular and biochemical mechanisms of which are still studying. In most cases, research has focused on stress-induced receptors (predominantly glucocorticoids), but efficacy of post-traumatic adaptation depends on the degree of manifestation of complex psycho-vegetative-somatic deregulation, and not only in the acute period after injury, but after a long time. In our lab, differ proteins specific for neuron (neural cell adhesion molecules, neuron specific enolase, NeuN), astrocyte (calcium binding S-100b protein, glial fibrillary acid protein), microglia (Iba-1), oligodendroglia (myelin basic protein) were studied under ischemic stroke, acute and chronic stress, cardiomyopathy, metabolic syndrome. The correlation between neurospecific proteins in differ brain areas and blood under pathological state will be presented and discussed. The formation of psychovegetative syndrome after TBI has many factors, especially those that affect limbic-reticular complex, which often has ultrastructural and microvascular injuries from head injuries, as well as damage to the BBB.

EVALUATION OF CELL-TYPE SPECIFIC EXOSOMES IN ALZHEIMER’S DISEASE

**Tina Bilousova, Mikhail Melnik, S. Whitaker Cohn, John Varghese, and
Karen Gyls**

University of California, Los Angeles
tbilousova@sonnet.ucla.edu

Background: Exosomes are small extracellular vesicles (EVs) originated from multivesicular endosomes which carry biochemical information about their cell-of-origin and signals for surrounding cells. EVs may also play a role in spread of proteopathic tau and amyloid beta seeds in Alzheimer’s disease (AD). Thus, brain exosomes may be a valuable therapeutic target for AD treatment. Ability of brain exosomes to cross the blood brain barrier make them a potential diagnostic and monitoring tool. Despite recent progress in development of EV isolation methods, our knowledge of human brain exosomal subpopulations and their roles in disease progression is very limited.

Methods: Cryopreserved parietal cortex from 5 late stage AD (Braak V-VI) and 3 control (NL) cases were used for the experiment. Brain exosomes/EVs were purified by sucrose density gradient ultracentrifugation after gentle enzymatic and mechanical dissociation of the brain tissue. Microglia-derived EVs were isolated from the brain EV fraction by immunoprecipitation with anti-CD11b antibodies. We performed analysis of miRNA transcriptome and proteome using NanoString and quantitative proteomics respectively.

Results: We identified 105 miRNAs which are present in more than 80% of analyzed human cases. The pathways controlled by five significantly upregulated miRNAs can be converged to control microglia activation (TGF β , TLRs, and chemokine signaling pathways) and neuronal survival and function (LTD and LTP, NGF and neurotrophin signaling pathways). One of the upregulated exosomal miRNAs (miR-188-5p) is known to be downregulated in human AD brain and it can restore synaptic and cognitive deficits in 5xFAD mice. MiR-381-3p can promote recovery of spinal cord injury in rats. On the protein level we found a moderate increase (around 50%) in exosomal markers CD9 and CD81 and decrease in CHMP4B (ESCRT-III) protein in the AD group. Levels of mitochondrial proteins and annexins were around 2 times higher in AD group compared to NL controls. ApoE protein was also significantly upregulated in AD microglial EVs.

Conclusions: Our data revealed the presence of anti-inflammatory and neuroprotective miRNA signature in CD11b-positive microglia-derived exosomes. Proteomics data suggests upregulation of ESCRT-independent

pathway of exosome biogenesis in AD microglia. Increased association of microglial EVs with ApoE maybe related to amyloid packaging and release by exosome-mediated mechanism.

THE LEVELS OF THE AUTOPHAGY MARKERS IN TG MICE, WHICH EXPRESS A POINT MUTANT (S9A) OF HUMAN GSK-3 β

Victor Dukat*, Anita Sidhu[#] and Tetyana Duka[#]

* The Department of Neurology

[#] Department of Biochemistry and Molecular & Cellular Biology,
The Georgetown University Medical Center, Washington, DC, USA

vd214@georgetown.edu; td624@georgetown.edu

There are two major pathways by which aggregates of proteins are removed: ubiquitin proteasomal system [UPS] and autophagy. We and others have shown both pathways to be deficient in PD [Parkinson's disease] brains and mouse models of PD. Our laboratory has been interested in α -synuclein (α -Syn) and Tau, and in particular, in their interaction with one another, as well as their interaction with the kinase p-GSK-3 β , which phosphorylates both these proteins at toxic sites. Our group was the first to show a tight association and physical interaction between p-Tau, α -Syn and GSK-3 β , in postmortem PD, AD [*Alzheimer's disease*] and DLB [*Dementia with Lewy bodies*] brains, as well as in cellular and animal models of PD, and neurotoxin -treated mice.

More recently, we developed a novel mouse model of PD, which overexpresses a constitutively active form of GSK- β , GSK-3 β -S9A, and found that this model recapitulated features of human PD with regard to pathology, neuroanatomy, late onset of motor dysfunction at 15 months, 30% loss of S.nigra, loss of striatal *dopamine* and response to *L-DOPA*.

To study autophagy in these GSK-3 β TG mice, the *midbrain* [mesencephalon] and frontal cortex, were extracted, and in all studies presented here, autophagy markers were examined in membrane fractions containing autophagosomes.

Levels of the overall potent inhibitor of autophagy, mTOR, and its direct substrate, p70S6 kinase, were assessed, along with the activator of autophagy, beclin 1, and proteins which form autophagosomes: ATG5, ATG7 and ATG12. We also assessed levels of chaperone proteins which participate in macroautophagy, Hsp70 and Hsp90; these Hsp(s) directly bind to and transport protein aggregates for degradation by lysosomes. In midbrain, we found significantly high levels of both mTOR and p70S6 kinase. We also observed high levels of beclin 1 and autophagosome proteins, ATG5, ATG7 and ATG12, along with Hsp70 and Hsp90.

Summary. We postulate that GSK-3 β may be harmful to dopaminergic neurons. Upon autoxidation of dopamine, ROS is formed, GSK-3 β autophosphorylates to form p-GSK-3 β -Y216, which causes the dual phosphorylation of α -Syn and p-Tau. These phospho-proteins interact to modulate the further phosphorylation of one another by p-GSK-3 β . p-GSK-3 β also activates mTOR in the presence of ROS. Importantly, mTOR inhibits autophagy, which leads to accumulation of p- α -Syn and p-Tau. These events occur in DA neurons and do not occur in frontal cortex, where autophagy is normal and DA is absent. p- α -Syn and p-Tau inhibit proteasomes. Since GSK-3 β is inducible and since it phosphorylates both α -Syn and p-Tau, GSK-3 β likely plays an important and central role in the genesis and maintenance of PD. Our findings explain many of the facts and unknowns currently existing in the PD literature.

AZOBENZENE/NITRAZEPAM-BASED LIGHT-CONTROLLABLE MODULATORS OF THE INHIBITORY BRAIN RECEPTORS

¹Galyna Maleeva, ²Daniel Wutz, ²Karin Rustler, ¹Alexandre Gomila, ³Alba Nin-Hill, ⁴Mercedes Alfonso-Prieto, ⁵Petra Scholze, ⁶Franck Peiretti, ³Carme Rovira, ²Burkhard Koenig, ^{1,7,8}Pau Gorostiza, ^{9,10,11}Piotr Bregestovski

¹ Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), Barcelona, Spain; galina_maleeva@ukr.net

² University of Regensburg, Institute of Organic Chemistry, Regensburg, Germany;

³ ICREA/UB, Departament de Química Inorgànica i Orgànica, Barcelona, Spain;

⁴ Computational Biomedicine, Institute for Advanced Simulations IAS-5 and Institute of Neuroscience and Medicine INM-9, Jülich, Germany;

⁴ Department of Pathobiology of the Nervous System, Center for Brain Research, Medical University Vienna, Vienna, Austria;

⁵ Aix Marseille Université, INSERM 1263, INRA 1260, Marseille, France;

⁶ Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona, Spain;

⁷ Network Biomedical Research Center in Biomaterials, Bioengineering and Nanomedicine (CIBER-bbn);

⁸ Aix-Marseille University, INSERM_1106, INS, Institut de Neurosciences des Systèmes, Marseille, France

⁹ Department of Normal Physiology, ¹⁰ Institute of Neurosciences, Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Glycine receptors (GlyRs) belong to the super-family of cys-loop receptors and provide fast inhibitory drive in spinal cord and some higher brain areas of the vertebrates. Dysfunction of GlyRs leads to the development of hyperekplexia, epilepsy and inflammatory pain sensitization. Thus, development

of allosteric modulators that would regulate the activity of these receptors with minimized side effects is of great importance. Photopharmacology is a unique tool for these purposes allowing precise spatial and temporal light-driven control of pharmacophores' activity, and consequently of their target proteins.

In our research for new pharmacological ways of GlyRs modulation we are using synthetic chemistry, heterologous system of protein expression, site directed mutagenesis, electrophysiology and molecular modeling. Recently, we have developed a first photoswitchable subunit-specific modulator of GlyRs, which consists of nitrazepam moiety and an azobenzene photoisomerizable group – Azo-NZ1. Azo-NZ1 was not active at alpha2 and alpha3 GlyRs upon UV light illumination, while causing a strong inhibition of the receptors activity at visible light ($IC_{50} \sim 20 \mu M$). In contrast, on alpha1 GlyRs, UV illumination reinforced inhibition of ion currents mediated by alpha1 receptors. Mutation G254A in pore-forming TM2 domain of alpha1 GlyRs changed the profile of the Azo-NZ1 interaction with this receptor, imparting to it the properties characteristic for alpha2 subunits, which allow us to suggest that this site is crucial for Azo-NZ1 interaction with GlyRs. Our experimental observations were confirmed by molecular modeling studies.

We have established a novel modulator of GlyRs that might be used for specific control of glycinergic activity in different experimental conditions and for the development of clinically relevant modulators.

НОВІ ПРОТЕЇНОВІ МІШЕНІ ДІЇ ТІАМІНУ І ЙОГО ПОХІДНИХ В НЕРВОВІЙ ТКАНИНІ

Ольга Меженська, Андрій Ребрів, Юлія Пархоменко
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна, м. Київ, Україна,
o.mejen2012@gmail.com

NOVEL PROTEIN TARGETS OF THIAMINE AND ITS DERIVATIVES IN NERVOUS TISSUE

Olha Mezhenska, Andrii Rebriev, Yuliya Parkhomenko
Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

The results obtained in these studies are important as they expand the current understanding of cell-molecular mechanisms of vitamin B₁ functions realization. This further substantiates the feasibility of using thiamine and its pharmacological forms for the prevention and/or treatment of pathologies that are induced or accompanied by thiamine deficiency.

Обґрунтування та мета Тіамін (вітамін B₁) добре відомий у якості попередника коензиму багатьох ензимів центрального метаболізму - тіаміндифосфату (кокарбоксілази). Однак інші функції тіаміну та його

некоензимних похідних у нервовій системі, вивчення яких було розпочато близько сторіччя назад у роботах Мінца, де показано спільне вивільнення тіаміну та ацетилхоліну при нервово-м'язовому спряженні, не отримали широкого визнання. Однією з причин цього явища була складність ідентифікації протеїнових мішеней дії тіаміну та його похідних на молекулярному рівні, що пов'язано з низьким вмістом таких протеїнів та/або їх дестабілізацією при розпаді відповідних поліпротеїнових комплексів. Тож метою цієї роботи було ідентифікувати протеїни нервової тканини, що проявляють спорідненість до тіаміну, зокрема тіамінзв'язувальний білок (ТЗБ), що його обубо описано у відділі біохімії вітамінів і коензимів раніше.

Методи Комбінація традиційних біохімічних методів та пост-геномних технологій дозволяє більш успішно вирішувати завдання, пов'язані з ідентифікацією протеїнів. У своїй роботі для визначення тиамін-залежних протеїнів синаптосомальної фракції мозку щурів, зокрема тіамінзв'язувального білку (ТЗБ), виділеного та частково охарактеризованого у відділі біохімії вітамінів та коензимів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ, ми застосували мас-спектрометричну ідентифікацію протеїнів, елюйованих з афінного сорбенту, що містить тіамін у якості ліганду (т-АС). Крім афінної хроматографії на т-АС із використанням як неспецифічної (1М NaCl), так і специфічної елюції (10 мМ тіаміну) на першому етапі в процесі афінної хроматографії для виявлення тіамінзалежних протеїнів мозку ми застосували наступні методи: гель-фільтрація, яка дозволила також визначити молекулярні маси протеїнових фракцій, гель-електрофорез, мас-спектрометрія та вестерн-блотинг. У подальшому, на основі експериментальних результатів, ми продовжили дослідження із застосуванням біоінформативних підходів.

Результати Результатами роботи підтверджено, що тіамін-залежні шляхи мозку не обмежуються механізмами, контрольованими тіаміндіфосфат-залежними ензимами. За допомогою МС-аналізу показано високу ймовірність присутності в наших елюатах ряду дегідрогеназ, зокрема, МДГ і ГДГ. Також за допомогою сорбента, який не містить тіаміну, але має ті ж основу (сефароза 4В) і спейсер, що і т-АС, було показано, що протеїни з МДГ-, ГДГ- і тіамінфосфатазними активностями, показані для ТЗБ, зв'язуються з тіаміном специфічно. Було визначено, що ТЗБ може представляти собою комплекс, що складається із двох протеїнів, а саме агрін та LRP4 та входить до складу кластеру АХР нікотинного типу. При цьому в умовах аліментарного В₁-авітамінозу виникає критичне зменшення вмісту обох протеїнів у гомогенатах мозку тіамін-дефіцитних щурів. Додавання високих доз тіаміну за добу до декапітації призводить до часткової нормалізації вмісту агріну та повної нормалізації вмісту LRP4 при порівнянні з контрольними тваринами. Ідентифікація ТЗБ за

амінокислотним складом із застосуванням інструментів Порталу ресурсів біоінформатики ExPASy (Швейцарський інститут біоінформатики) показала ті ж результати. Визначити можливість зв'язування з тіаміном протеїнів, ідентифікованих як компоненти ТЗБ та виявити тіамінзв'язувальні сайти дозволило застосування молекулярного докінгу. Для докінгу використовували просторові структури протеїнів та лігандів, отримані з використанням рентгено-структурного аналізу. Використовували сліпий і сайт-спрямований протоколи. Докінгу піддавали практично всі варіанти протеїнів, визначені при проведенні мас-спектрометричного аналізу та розміщені у відкритих базах даних. У результаті ми отримали підтвердження даних отриманих емпіричними шляхами щодо природи ТЗБ. Докінг показав кишені для зв'язування тіаміну в комплексі агрин-LRP4. Причому цих кишеней виявилось декілька, що підтвердило попередні експериментальні результати групи щодо наявності в ТЗБ кількох сайтів зв'язування тіаміну. При проведенні докінгу були встановлені амінокислотні залишки поліпептидних ланцюгів як агрину, так і ліпопротеїнового рецептора 4, відповідальні за зв'язування тіаміну. Крім того, також з попередніх результатів нашої групи, було відомо про більш низьку афінність до ТЗБ фосфатів тіаміну та ацетилхоліну у порівнянні з тіаміном. Результати розрахунків у програмі AutoDock Vina переконливо свідчать про те, що тіамін, його фосфати, а також сульфопохідне тіамін монофосфату -бенфотіамін (одна з фармакологічних форм вітаміну B₁) - перевищують аденозинфосфати за афінністю до комплексу Agrn-LRP4. Порівняльний аналіз сайтів зв'язування тіаміну з протеїнами комплексу Agrn-LRP4 визначив їх високу подібність до сайтів зв'язування у добре охарактеризованих тіамін-залежних протеїнах. Було виявлено співпадіння конформації молекул лігандів при зв'язуванні з проаналізованими протеїнами. Докінг комплексу Agrn-LRP4 з фосфорними ефірами тіаміну дозволив визначити різницю у зв'язуванні та пояснити причини більш низької афінності фосфатів у порівнянні з тіаміном. Після того, як були отримані результати вимірювання ТДФ-азної активності у фракціях після гель-фільтрації, виявлення факту, що МДГ-зна активність постійно супроводжує тіаміндіфосфат гідролазну активність (у тому числі та після гель-фільтрації), докінга тіаміну з комплексом LRP4-Agrn і виконано аналіз результатів попередніх досліджень нашої групи, зроблено припущення, що саме LRP4 може бути мембранною ТДФ-азою. Для перевірки цієї гіпотези ми провели попарне та просторове вирівнювання цього протеїну проти добре охарактеризованого протеїну, який гідролізує ТДФ, а саме розчинної цитозольної тіамін трифосфатази, хоча до цих пір ніяких ензиматичних активностей у LRP4 виявлено не було. Результати цього аналізу показали наявність у LRP4 кишені подібної до кишені, де зв'язується та

гідролізується ТТФ у складі цитозольної ТТФ-ази. Крім того, ці методи дозволили виявити у складі амінокислотної послідовності LRP4 класичний ТДФ-зв'язувальний сайт. Використані біоінформативні інструменти дозволили передбачити біологічні ролі тіаміну та його біологічно активних похідних при зв'язуванні з комплексом, який ми вважаємо ТЗБ: 1) стабілізація комплексу LRP4-Agrn у процесі збирання кластеру nAHP; 2) ТТФ-азна активність у ліпопротеїнового рецептору 4, 3) функціонування мобільного пулу тіаміну (РПТ) та пов'язаних з цим процесів через кластер nAHP відповідно до нашого уявлення про те, що ТЗБ є однією з ключових ланок в оберті РПТ у нервових клітинах та критичні порушення у його функціонуванні можуть бути причиною ініціації нейродегенеративних процесів.

Висновки Отримані в роботі результати мають важливе значення завдяки тому, що розширюють сучасні уявлення про клітинно-молекулярні механізми реалізації функцій вітаміну В₁. Це додатково обґрунтовує доцільність застосування тіаміну та його фармакологічних форм для профілактики та/або лікування патологій, які ініціюються або супроводжуються дефіцитом тіаміну.

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРИ ГІПОКАМПА МИШЕЙ АРОЕ-/- ЗА УМОВИ СПОЖИВАННЯ ДІЄТ РІЗНОГО ЖИРОВОГО СКЛАДУ

Галина Скибо¹, Тетяна Коваленко¹, Ірина Осадченко¹, Дмитро Шепілов¹, Ніттая Марунгванг², Олена Приходько², Галина Ушакова³

¹ Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, Україна

² Лундський університет, Лунд, Швеція

³ Дніпровський національний університет ім. О. Гончара, Дніпро, Україна

E-mail: shepilov@biph.kiev.ua

PECULIARITIES OF THE HIPPOCAMPAL STRUCTURE IN APOE-/- MICE FED DIETS WITH DIFFERENT FAT COMPOSITION

Galyna Skibo¹, Tetiana Kovalenko¹, Iryna Osadchenko¹, Dmytro Shepilov¹, Nittaya Marungruang², Olena Prykhodko², Galyna Ushakova³

¹ Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

² Lund University, Lund, Sweden

³ Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

We studied the role of diets with different fat composition on the pyramidal layer structure, quantitative indicators of astrocytes and synapses in the hippocampal CA1 area of ApoE-/- mice. It was found that low-fat diet may induce the pyramidal neurons damage and astrogliosis. The absence of ApoE in mice, regardless of the diet, related with significant decrease in synaptic density.

Обґрунтування та мета. Аполіпопротеїн Е (АроЕ) – це білок, який транспортує холестерол у крові та тканинах організму. Миші, нокаутні по гену АроЕ (АроЕ^{-/-}), використовуються як модель для дослідження дисліпідемії, атеросклерозу та нейродегенеративних процесів.

Метою даної роботи було з’ясування ролі дієт із різним якісним і кількісним складом жирів на структурні властивості нейронів пірамідного шару, астрогліальних клітин та синаптичного апарату зони СА1 гіпокампа мишей АроЕ^{-/-}.

Методи. Експеримент проводили на 8-тижневих мишах, яких було поділено на 3 групи: 1) тварини лінії C57BL/6 на стандартній дієті (контроль); 2) миші АроЕ^{-/-}, які споживали низькожирову дієту (12% ккал, містила соєву олію) (НЖ); 3) тварини АроЕ^{-/-}, яких годували високожировою дієтою (38 ккал, містила соєву олію та смалець) (ВЖ). Тривалість годування становила 8 тижнів. Надалі проводили світлооптичне, імуногістохімічне й електронномікроскопічне дослідження, а також здійснювали імуноферментний аналіз тканини гіпокампа.

Результати. У зоні СА1 гіпокампа НЖ тварин спостерігалось порушення структурної організації пірамідного шару, а саме: його потоншення, підвищення кількості гіперхромних (ушкоджених) нейронів, зменшення щільності інтактних пірамідних клітин на 22-26%, порівняно з контролем та ВЖ групою. Крім того, НЖ миші демонстрували ознаки астрогліозу, що проявлявся в значущому збільшенні щільності астроцитів у пірамідному та променевому шарах гіпокампа (на 17-21%), гіпертрофії гліальних клітин (на 45-49%) і підвищенні концентрації філаментної форми GFAP у гомогенаті досліджуваної тканини (на 54-96%), у порівнянні з двома іншими групами. Однак, на ультраструктурному рівні, як НЖ, так і ВЖ тварини характеризувалися значущим зменшенням чисельної щільності синапсів у нейропілі, порівняно з контролем, що вказує на зміни в структурній пластичності гіпокампа у мишей АроЕ^{-/-} та можливі когнітивні порушення в них у подальшому.

Висновки. Споживання низькожирового раціону з рослинними оліями у своєму складі здатне викликати пошкодження пірамідних нейронів та спричинити астрогліоз у гіпокампі тварин АроЕ^{-/-}, що є одним із маркерів нейрозапалення. Відсутність експресії АроЕ в мозку мишей, не залежно від жирового складу дієти, пов’язана з порушенням синаптичної пластичності у дорсальному гіпокампі, який забезпечує процеси навчання та формування пам’яті.

ПЛЕНАРНА СЕСІЯ 2. МЕДИЧНА БІОХІМІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ PLENARY SESSION 2. MEDICAL BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY

ПОКАЗНИКИ ФОЛІКУЛЯРНОЇ РІДИНИ ПРИ РИЗИКУ РОЗВИТКУ СИНДРОМУ ГІПЕРСТИМУЛЯЦІЇ ЯЄЧНИКІВ

Олександра Бекасова, Людмила Омелянчик, Віра Копійка
Запорізький національний університет, Запоріжжя, Україна
alexbekasova@gmail.com

INDICATORS OF FOLLICULAR LIQUID AT THE DEVELOPMENT OF OVARIAN HYPERSTIMULATION SYNDROME

Oleksandra Bekasova, Liudmyla Omeliankyk, Vira Kopyika
Zaporizhzhia National University, Zaporizhzhia, Ukraine

Follicular fluid is a biological fluid where oocytes mature. The study of laboratory parameters of follicular fluid may provide additional information about the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. The results of the study show the prospects for further study of laboratory parameters of follicular fluid in ovarian hyperstimulation syndrome.

Фолікулярна рідина (ФР) є унікальною біологічною рідиною, в якій відбувається дозрівання ооцитів і фолікулів та соматичний зв'язок клітин-зародків. Компоненти фолікулярної рідини можуть відображати стан синтезу гормонів яєчниками, зрілості ооцитів, овуляції і лютеїнізації, тому ФР пов'язана із заплідненням і раннім розвитком ембріонів. Вивчення компонентів ФР може надати додаткову інформацію про патогенез синдрому гіперстимуляції яєчників (СГЯ). Метою дослідження було вивчення біохімічних показників фолікулярної рідини у жінок при ризику розвитку СГЯ в умовах використання допоміжних репродуктивних технологій. Аналізували показники фолікулярної рідини у жінок віком від 20 до 45 років після гормональної терапії у 3-х дослідних групах: 1) контрольна група без ознак СГЯ 2) з ризиком розвитку СГЯ; 3) з клінічними проявами СГЯ. Методи дослідження. Біохімічний аналіз РФ проводили за допомогою аналізатора Vitalab «Flexor E», на якому визначали вміст глюкози, альбуміну, загального білка, загального та прямого білірубину, креатиніну, γ -глутамілтрансферази, лактат-дегідрогенази, лужної фосфатази, аланінамінотрансферази, аспаратамінотрансферази, K^+ , Na^+ , сечовини. Гормональний профіль РФ аналізували за допомогою хемілюмінесцентному аналізаторі «Elesys 2010», на якому проводили кількісне визначення вмісту лютеїнезуючого гормону, фолікулостимулюючого гормону, пролактину, кортизолу, прогестерону, естрадіолу, дегідроепіандростерон-сульфату. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерія Манна-Уїтні

(показник U). Статистична значущість відмінностей оцінювалася при $p \leq 0,05$. За результатами дослідження гормонального профілю РФ, в обстежуваних групах, спостерігалось значне підвищення пролактину, прогестерону та естрадіолу, проте значимих відмінностей між групами виявлено не було. Інші показники гормонів знаходилися в референтних межах норми та були подібними в досліджуваних групах. За біохімічними показниками ФР було виявлено статистично значиме ($p \leq 0,05$) підвищення в 3-ій групі (з проявами СГЯ) рівня лактат-дегідрогенази ($p = 0,03$) відносно 1-ої групи (контрольна група) та K^+ ($p = 0,05$) у порівнянні з 2-ою групою (з ризиком розвитку СГЯ). Інші показники обстежуваних груп не відрізнялись між собою. В основі розвитку СГЯ лежить феномен гіперпроникності судин на фоні високого вмісту статевих гормонів, з подальшим розвитком тромбоемболічних ускладнень та поліорганної недостатності. Одним із лабораторних маркерів розвитку СГЯ вважають підвищення концентрації K^+ в плазмі крові. Підвищення рівня K^+ в фолікулярній рідині, також може бути свідченням розвитку цього синдрому. Збільшення показника лактат-дегідрогенази в РФ може виступати показником початку розвитку ниркової недостатності, які є найпоширенішим ускладненням при СГЯ. Таким чином, отримані результати дослідження показують перспективність подальшого вивчення лабораторних показників фолікулярної рідини у жінок після проведення контрольованої гормональної стимуляції.

ЗМІНА АКТИВНОСТІ ЛЕЙКОЦИТАРНОЇ ЕЛАСТАЗИ ЗА ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК

^{1,2}Васильченко В.С., ¹Король Л.В., ²Кучменко О.Б.

¹Державна установа «Інститут нефрології НАМН України»

²Національний університет «Києво-Могилянська академія»

E-mail: vasylichenkovita@gmail.com

CHANGING LEUCOCYTIC ELASTASE ACTIVITY IN CHRONIC KIDNEY DISEASE

^{1,2} Vasylichenko V., ¹Korol L., ²Kuchmenko O.

¹ State Institution "Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Laboratory of Biochemistry, Kyiv, Ukraine;

² National University of Kyiv-Mohyla Academy, Kyiv, Ukraine

E-mail: vasylichenkovita@gmail.com

Leukocyte elastase activity can be used as an indicator of the development of secondary complications in patients with chronic kidney disease. The results of our research show a decrease in enzyme activity by 49 % in the early stages of the disease and open new horizons for deepening and expanding the design of the study of pathological conditions.

Лейкоцитарна еластаза (ЕС 3.4.21.37, ЛЕ) є ензимом з еластолітичною активністю, потенціал якого здебільшого реалізується за розвитку запалення. Міститься ЛЕ у азурофільних гранулах поліморфоядерних лейкоцитів, а, вивільняючись, внаслідок дегрануляції, використовує компоненти екстрацелюлярного матриксу та протеїни судинної стінки в якості субстратів. ЛЕ може впливати й на розвиток ендотеліальної дисфункції. Разом з цими патологічними процесами, змінюється оксидативний статус. Такі зміни характерні за хронічної хвороби нирок (ХХН). Метою роботи було дослідити зміни активності ЛЕ в сироватці крові хворих на ХХН I-II стадії.

В дослідженні використовували зразки крові пацієнтів з ХХН (n=26) віком від 24-50 років, зі співвідношенням чоловіків та жінок 1:1. Контрольну групу становили 30 практично здорових осіб того ж віку та аналогічного співвідношення. Активність ЛЕ в сироватці крові визначали за методом Кубишкіна А. В. та співавторів за швидкістю гідролізу N-тетрабутоксикарбонілаланінр-нітрофенілового ефіру (BOC-Ala-ONp) спектрофотометрично за 347 нм. Статистичну обробку результатів здійснювали критеріями Колмогорова-Смірнова ($P < 0,01$) та t-критерій Стьюдента ($P < 0,05$).

Активність ЛЕ у пацієнтів з ХХН I-II стадії знижувалась на 49 % порівняно з умовно-здоровими донорами. Відомо, що ензим змінює свою активність з розвитком кардіоваскулярних ускладнень, що також характерно при прогресуванні ХХН у хворих. Вживання лікарських препаратів, які можуть бути інгібіторами цього ензиму також потребують ретельного вивчення. Отже, за ХХН ЛЕ може бути одним із перспективних показників для моніторингу прогресування ХХН.

BIOCHEMICAL BASIS FOR THE FORMATION AND PROGRESSION OF FIBROUS TISSUES

Verevka S.V.¹, Voroshylova N.M.¹, Obernikhina N.V.²

¹ SE “Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

² Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine
verevka.biochem@gmail.com

By conventional wisdom, fibrosis is a pathologic wound healing in which connective tissue replaces normal parenchymal tissue to the extent that is goes unchecked, leading to considerable tissue remodeling and the formation of permanent scar tissue. The leading cause of fibrosis is chronic inflammation. Since the leading cause of fibrosis is chronic inflammation, it is considered as some kind of organism’s protective reaction, which is intended to localize the

focus of inflammation from the surrounding tissues. Experimental data of recent years raise doubt about such definition. The explanation of the formation and development of fibrous tissue as a consequence of autochthonic parametabolic processes, which are caused by the regularities of aggregation of destabilized proteins, becomes more reasonable.

As is well known, the development of the inflammatory process is accompanied by a variety of reactions leading to damage to the structure of protein molecules. Various proteolytic, oxidative and associative disorders of proteins lead to the formation of derivatives with a destabilized unbalanced structure. In the case of insufficient efficiency of clearance systems, the local accumulation of such structures leads to the formation of aggregates, among which the most energetically favorable are β -structured ones. Such forms are highly stable and insoluble, but also able to sorb various soluble proteins and rearrange their structure in their own likeness. The latter property leads to the growth of the aggregate and significantly disrupts the functioning of the surrounding tissues. The experimental data of recent years prove that such an autochthonic process is associated not only with the development of amyloidosis, but is also involved in the formation of fibrous tissues. Studies of the various fibrous tissues, which were carried out in our laboratory, confirm this opinion. An interesting destabilizing factor is the effect of complex-forming metal ions. The most famous example of this is the so-called nickel allergy. These ions denature the protein structure by interacting with the amino constituents of proteins. This makes them immunogenic and leads to the development of an immune system response. Contact with nickel-containing products causes a local reaction of the immune system, which is observed in a fairly wide segment of the population. The mechanisms of such a process and the most striking examples of its manifestation are under consideration.

РОЛЬ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ У ФІБРОЗУВАННІ ЛЕГЕНЬ

**Юлія Гордієнко, Оксана Карасьова, Вікторія Родіонова, Алла
Шевцова**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпро, Україна
gordienko.ju@gmail.com

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN LUNG FIBROSIS **Iuliia Gordiienko, Oksana Karasova, Victoriia Rodionova, Alla Shevtsova**

SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

It has been shown the activities of different forms of matrix metalloproteinases MMP2 and MMP9 in the plasma of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis can be used as additional criteria of the severity of these diseases.

Матриксні металопротеїнази ММП2 та ММП9 відіграють особливу роль у підтримці гомеостазу екстраклітинного матриксу, тому порушення їхньої експресії та активності призводить до патологічних змін у різних органах. На сьогодні практично немає відомостей про зв'язок активності цих ферментів з процесами фіброзування легень і розвитку пневмосклерозу.

Метою роботи було визначити активність різних форм ММП2/9 у плазмі крові у пацієнтів з пневмосклерозом різного походження та оцінити їхню діагностичну значимість.

Методи. Активність ММП досліджували у плазмі хворих на ідіопатичний фіброз легень (ІФЛ) та системний склероз (СС) з різним ступенем тяжкості перебігу захворювання. Усі пацієнти були розподілені на 4 групи: 1 – пацієнти з ІФЛ середньої тяжкості ($n = 12$), 2 – з важким ІФЛ ($n = 13$), 3 – хворі на СС середньої тяжкості ($n = 16$), 4 – з важким перебігом СС ($n = 7$). Контрольну групу склали здорові донори ($n = 15$). Взяття крові проводили двічі: у 1-ий день та через 1 місяць. Активність ММП2/9 визначали за допомогою желатин-зимографії, результати вимірювання виражали в умовних одиницях (УО).

Результати. На початку дослідження активність ММП 2/9 у 1 групі майже не відрізнялась від норми. За СС відбувались різноспрямовані зміни: активність проММП9 перевищувала норму у 2,5 рази, тоді як ММП2 була значуще знижена. У 2 та 4 групах у 1-ий день спостерігалось різке підвищення проММП9 (у 2,2-2,7 разів), активність якої через місяць сягала $2,72 \pm 0,11$ УО за ІФЛ та $2,91 \pm 0,54$ УО за СС. Водночас встановлено, що СС характеризується зниженням активності ММП2 до $0,78 \pm 0,13$ УО. Під час дослідження виявлено комплексні форми ММП з молекулярними масами 125-130 та 120 кДа, втім перший комплекс визначався лише в групі хворих на ІФЛ. Підвищення активності даних комплексів у хворих 1 та 3 груп через місяць було більш виразним (у 2,2-3,2 рази) порівняно з важким перебігом (у 1,7-2 рази).

Висновки. Порушення регуляції активності ММП2 та ММП9 асоційовано з процесами фіброзоутворення у легенях і розвитком пневмосклерозу. Зміни активності проММП9 та ММП2 та їхніх комплексних форм з молекулярною масою 125-130 кДа та 120 кДа можуть слугувати додатковими показниками тяжкості перебігу ідіопатичного фіброзу легень та системного склерозу.

ОСОБЛИВОСТІ МЕХАНІЗМІВ ТРОМБОУТВОРЕННЯ У ХВОРИХ ПРИ ХРОНІЧНИХ МІЄЛОПРОЛІФЕРАТИВНИХ НЕОПЛАЗІЯХ ТА АТЕРОТРОМБОЗАХ

Тетяна Ніколаєнко-Камишова
ДЗ «ДМА МОЗ України» м. Дніпро, Україна
Tatianik4@gmail.com

FEATURES OF THE MECHANISMS OF THROMBUS FORMATION IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASIAS AND ATHEROTHROMBOSIS

Tatiana Nikolaienko-Kamyshova
SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

Thrombotic complications in patients with chronic myeloproliferative neoplasias and atherothrombosis characterized by the increased spontaneous platelet aggregation, increased level of AGP m.m. 68 kDa, wat the two-anthentary glycans contain with a terminal N-acetylneiramin acid, and the degree of degradation of FN with the content of fFn with m.m. 90-98 kDa \approx 50% of the total amount of fFn. In patients with chronic myeloproliferative neoplasias by criteria for the likelihood of developing thrombosis increased levels of hemoglobin and leukocytes, ristomyin-induced platelet aggregation; high level of AGP components with m.m.m 126 i 84 кDa, containing branched hypersialized glycans N-acetylneiramin acid in positions 2 \rightarrow 6 and 1 \rightarrow 3.

With atherothromboses thrombus the risk criteria are high cholesterol level and platelet AGP-aggregation indicators, functional activity of Fn. Features of the structural and functional state of glycans are markers of microcirculation disorders which is complicated by the development of thrombosis. The presence of defective glycans and their degradation products should be considered an additional criterion for the likelihood of thrombosis in patients with chronic myeloproliferative neoplasias.

Обґрунтування: Судинні ускладнення в структурі інвалідизації та смертності займають провідне місце. При проявах периферичної судинної ішемії тромбоутворення повинно супроводжуватися структурно-функціональними змінами білків мембранної адгезії з формуванням синдрому генералізованої молекулярної модифікації плазматичних мембран, особливо при неоплазіях.

Мета: Визначення особливостей процесів дезінтеграції в системі гемостазу при тромбоутворенні з урахуванням особливостей хворих на хронічні мієлопроліферативні неоплазії (ХМПН), що є непластичним процесом, та пацієнтів з атеротромбозом.

Методи: Стан пацієнтів досліджуваних груп хворих оцінювали з залученням загально-клінічних, біохімічних, гемостазіологічних та специфічних методів; визначався рівень, структура і функціональна активність альфа-кислого глікопротеїну (АГП), фібронектину (ФН),

фрагментів фібронектину (фФН). Мікрогетерогенність АГП та ФН визначали методом лектин-ферментного аналізу із використанням деглікозильованих за допомогою N-Glycosidase F (US Biological, США) антитіл до цього білку (Кулініч А.О., Шевцова А.І., Письменецька І.Ю., Маслак Г.С/ Спосіб визначення ступеню фукозильованості фібронектину / Пат. на корисну модель № 54113 Україна. МПК А61В 5/145). Кон'югацію лектинів з пероксидазою кореня хрону та лектин-блот аналіз проводили згідно рекомендаціям М.Д. Луцика (1987, 1989).

Результати: В обох групах хворих підвищення показників спонтанної агрегації тромбоцитів корелювало зі зростанням рівня АГП м.м. 68 кДа, що містять двохантєнні глікани з кінцевою N-ацетилнейраміною кислотою, та ступенем деградації ФН з вмістом фФН з м.м. 90-98 кДа $\geq 50\%$ від загальної кількості фФН. У хворих на ХМПН критеріями ймовірності розвитку тромботичних подій були підвищені показники рівня гемоглобіну, лейкоцитів, ристоміцин-індукованої агрегації тромбоцитів; при високому рівні АГП визначались компоненти АГП з м.м. 126 і 84 кДа, що містять розгалужені гіперсіальовані глікани N-ацетилнейрамінової кислоти у положеннях 2→6 та 1→3. До складу ФН входили, також, розгалужені глікани. При атеротромбозі критеріями ризику є високі рівні холестерину та показників АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів, функціональної активності ФН.

Висновки: Особливості структурно-функціонального стану гліканів, що виявлені у плазмі хворих, є маркерами порушень мікроциркуляції, що ускладнюється розвитком тромбозу. Наявність дефектних гліканів слід вважати додатковим критерієм ймовірності розвитку тромботичних ускладнень у пацієнтів на ХМПН.

Щодо обговорення: Згідно дослідженню Univercity Medical Centre Groningen, що було представлено на Європейському конгресі кардіологів 2017р, наявність у пацієнтів груп крові «не0», а саме А(II), В(III), АВ(IV) слід розглядати як фактор ризику розвитку інфаркту міокарда разом з переліком незмінних факторів ризику розвитку хвороб серця та судин – віку, статі, обтяженого сімейного анамнезу. Встановлено, що у хворих з групами крові «не0» - підвищено рівень фактору Віллебранда; відзначено також, що у осіб з А (II) групою крові був високий рівень холестерину та галектину. Оскільки генотип групи крові пов'язаний з глікановою складовою клітинних мембран, зокрема еритроцитів, можливо, при визначенні ступеня ризику тромбоутворення доречно відслідити залежність адгезивності клітин крові від групи крові. Доречи, у наших дослідженнях з 76 хворих з тромботичними ускладненнями 52 пацієнта мали «не0» групу крові.

РОЛЬ СИГНАЛЬНОГО ШЛЯХУ ERN1 У РЕПРОГРАМУВАННІ ЕФЕКТІВ ГІПОКСІЇ

**Олександр Мінченко, Дарія Цимбал, Олена Хіта, Дмитро Мінченко,
Юлія Вілецька, Оксана Гнатюк, Сергій Даніловський, Оксана
Ратушна**

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ, Україна
ominchenko@yahoo.com

THE ROLE OF ERN1 SIGNALING PATHWAY IN REPROGRAMMING OF HYPOXIC EFFECTS

**Oleksandr Minchenko, Dariia Tsymbal, Olena Khita, Dmytro Minchenko,
Yulia Viletska, Oksana Hnatiuk, Serhiy Danilovskyi, Oksana Ratushna**
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;
ominchenko@yahoo.com

Activation of endoplasmic reticulum stress as well as hypoxia is tightly connected to malignant tumor growth. It was shown that ERN1 inhibition leads to significant anti-proliferative effect in glioma tumors through total reprogramming of thousands of genes related to proliferation, angiogenesis and apoptosis as well as their hypoxic regulation. We have identified a molecular mechanism of this reprogramming through interaction different transcription factors on common binding sites in promoter region of key regulatory genes. A better understanding of the mechanisms underlying ERN1-dependent genome reprogramming is very important for tumor treatment.

Динамічна адаптація організмів до різноманітних впливів і підтримання гомеостазу є надзвичайно важливими для їх життєдіяльності, а тому пізнання інтегральних молекулярних механізмів регуляції метаболізму за цих станів необхідне для виявлення шляхів розвитку патологічних станів та розшифровки молекулярних основ порушення регуляції життєвих процесів. Добре відомо, що ключовим інтегральним регулятором практично всіх процесів життєдіяльності організмів є біологічний годинник, який контролює добові ритми і представляє собою досить складну і високоточну систему контролю метаболічних та фізіологічних процесів у різних організмів шляхом функціонального репрограмування геному. Порушення функції біологічного годинника призводить до дерегуляції циклічного характеру протікання різних метаболічних процесів в організмі та розвитку патологічних станів, у тому числі й до виникнення злоякісних пухлин, а тому пізнання молекулярних основ цих порушень є надзвичайно важливим як для профілактики та терапії різноманітних захворювань, так і для розуміння інтегральних механізмів регуляції метаболізму в цілому. З іншого боку, розвиток стресових станів різної природи може порушувати функцію біологічного годинника, що було виявлено і для стресу ендоплазматичного ретикулама,

який є не менш важливим компонентом інтегральних механізмів регуляції практично всіх процесів життєдіяльності і підтримання гомеостазу, а тому і він відіграє ключову роль у розвитку не лише метаболічних, а й онкологічних захворювань, причому досить не простими шляхами, включаючи репрограмування геному на виживання або смерть клітин. І в цих процесах задіяні всі компоненти клітини від плазматичної мембрани і ендоплазматичного ретикулула до ядра, мітохондрій та інших субклітинних структур. Важливо відмітити, що саме стрес ендоплазматичного ретикулула значною мірою забезпечує виживання пухлинних клітин і їх резистентність до дії на них хімічних сполук, що використовуються як терапевтичні агенти, а також до гіпоксії.

У зв'язку з цим, дослідження молекулярно-генетичних основ злоякісної трансформації клітин мають ґрунтуватися на глибоких знаннях про функціональну роль окремих ключових генів в інтегральних механізмах регуляції процесів життєдіяльності і підтримання гомеостазу, причому не лише тих генів, що кодують структурні та регуляторні протеїни, а й транскриптів, що не кодують протеїни, і кількість яких як у нормальних, так і пухлинних клітинах в десятки разів більша за кількість мРНК, які кодують протеїни. Саме некодуєчі макроРНК і мікроРНК, а також циркулярні РНК є надзвичайно важливими регуляторами різноманітних процесів у клітинах, у тому числі й злоякісного росту. Нами отримані унікальні дані стосовно молекулярних основ взаємодії ключових у реалізації інтегральних механізмів регуляції метаболізму на рівні промоторів генів, які містять специфічні послідовності до різних факторів транскрипції. Інколи зустрічаються гени, промоторні ділянки яких мають по два і більше сайтів зв'язування одного і того ж транскрипційного фактора, причому деякі із них із-за наявності в них певних нуклеотидних змін можуть зв'язувати по 2 і навіть три фактори транскрипції. В промоторних ділянках деяких ключових регуляторних генів нами виявлені сайти, що потенційно можуть зв'язувати як транскрипційний фактор HIF, так і ХВР1, а це і є молекулярний механізм залежності гіпоксичної регуляції від стресу ендоплазматичного ретикулула. Більше того, виявлені також унікальні гени, промоторні ділянки яких містили сайти, що здатні зв'язувати і три транскрипційні фактори, зокрема HIF, ХВР1 та CLOCK-ARNTL, поєднуючи на молекулярному рівні три ключові інтегральні системи регуляції метаболізму і підтримання гомеостазу: біологічний годинник, стрес ендоплазматичного ретикулула і залежність від кисню.

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

ГЕНОТОКСИЧНА ДІЯ ОДНОСТІННИХ КАРБОНОВИХ НАНОТРУБОК

**Ольга Рудницька, Дмитро Мінченко, Дарія Цимбал, Олександр
Мінченко**

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ, Україна
olga_rudnytska@ukr.net

GENOTOXIC EFFECT OF SINGLE-WALLED CARBON NANOTUBES

Olha Rudnytska, Dmytro Minchenko, Dariia Tsymbal, Oleksandr Minchenko
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Due to their unique properties, carbon nanotubes are increasingly used, in particular for biomedical purposes, in the manufacture of biosensors, in tissue engineering, as carriers of drugs in oncotherapy and imaging of probes. On the other hand, their use carries certain risks, because to date not enough is known about their effects on the human body, in particular their genotoxicity.

Завдяки унікальним властивостям карбонові нанотрубки знаходять все більше використання, зокрема і у біомедичних цілях, при виготовленні біосенсорів, в тканинній інженерії, як носії лікарських засобів при онкотерапії та візуалізації зондів. З іншого боку, їх застосування несе певні ризики, адже на сьогодні ще не достатньо відомо про їх вплив на організм людей. Зокрема, постає ще невирішене питання потенційної токсичності карбонових нанотрубок, адже вони здатні перетинати гематоенцефалічний бар'єр, проникати через клітинну мембрану з накопиченням у ядрі через комплекс ядерних пор, а тому є особливо небезпечними, що пов'язано з їх можливим генотоксичним ефектом.

Метою роботи було дослідити рівень експресії генів, білкові продукти яких задіяні в регуляції імунної відповіді, проліферативних процесів та виживання клітин, зокрема *HLA-G* (histocompatibility antigen, class I, G, також відомий як human leukocyte antigen G (HLA-G)), *TOMIL1* (target of oncogene MYB1 (chicken)-like 1), *HSPB8* (small (22 kDa) heat shock protein B8), *CA9* (carbonic anhydrase 9), *MYBL1* - MYB proto-oncogene like 1), *MYBL2* – v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog-like 2), а також мікроРНК miR-144-5p, miR-203-5p, miR-19a-5p, miR-507-3p, miR-143-3p, miR-182-5p, що пост-транскрипційно можуть регулювати їх експресію. Експерименти проводили на нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS, використовуючи різні концентрації SWCNTs (2 та 8 ng/ml середовища). Тривалість дії цих наночастинок – 24 години. Рівень експресії генів оцінювали за даними кількісної полімеразної реакції у реальному часі і нормалізували по експресії β -актину.

Встановлено, що вплив SWCNTs на експресію даних генів має різнонаправлений характер, що виражається у їх відмінній геноспецифічній відповіді. Зокрема суттєво та дозо-залежно зменшується рівень експресії гену *HLA-G*, який відіграє важливу роль в імунній відповіді клітини, що, можливо, сприяє індукованому SWCNT канцерогенезу. За дії цих наночастинок значно збільшується рівень експресії генів *TOM1L1*, *CA9* та *HSPB8*, які задіяні в регуляції сигнальних шляхів, процесів проліферації та трансформації клітин. При цьому, рівень експресії генів *CA9* та *HSPB8* дещо послаблюється при збільшенні концентрації наночастинок до 8 ng/ml. Рівень експресії гена *MYBL1*, транскрипційного фактору, який відіграє важливу роль у мейозі, зменшується, в той час, коли рівень експресії гена *MYBL2*, який контролює виживання клітин і процеси проліферації дещо посилюється. Також було встановлено, що під впливом одностінних карбонових нанотрубок збільшується рівень експресії мікроРНК *miR-144-5p*, *miR-507-3p*, *miR-143-3p* та *miR-182-5p*, які контролюють рівень експресії мРНК *HLA-G*, а *miR-144-5p* ще й рівень експресії мРНК *MYBL1*. Водночас відмічається зменшення рівня експресії *miR-203-5p*, *miR-19a-5p* у клітинах нормальних астроцитів людини і ці зміни негативно корелюють з підвищеним рівнем мРНК *HSPB8* та *TOM1L1* відповідно. Отримані дані узгоджуються з наявністю в досліджених мРНК сайтів зв'язування відповідних мікроРНК, що показано біоінформаційним аналізом. Що, в свою чергу, вносить зміни у рівень експресії генів на пост-транскрипційному рівні, адже маючи специфічні сайти зв'язування з матричною РНК даних генів, ці мікро РНК сприяють її розщепленню, а отже і зменшення її рівня в клітині.

Таким чином, одностінні карбонові нанотрубки навіть при дуже низьких концентраціях змінюють рівень експресії ключових регуляторних генів, пов'язаних з імунною відповіддю, проліферацією клітин і канцерогенезом, у нормальних астроцитах людини лінії NHA/TS. Це свідчить суттєвий вплив SWCNT на важливі регуляторні механізми в клітині, що відображає токсичну дію цього унікального карбонового з'єднання на гліальні клітини.

Отже, отримані данні дозволяють навести акценти на аспекти, які потрібно враховувати при застосуванні одностінних карбонових нанотрубок, як “перспективних матеріалів” у біомедичних цілях.

MOLECULAR MECHANISMS OF INTERACTION OF HYPOXIA WITH ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS SIGNALING PATHWAYS

**Myroslava Sliusar, Dmytro Minchenko, Olha Luzina, Olena Khita,
Oleksandr Minchenko**

Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,
Kyiv, Ukraine

slyusarmirolava@gmail.com

Background and aim. The aggressive phenotype of glioblastoma multiforme may be associated with hypoxia, which plays a key role in tumorigenesis through changes in gene expression controlled by the hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1). The rapid growth of solid tumors generates microenvironmental changes in regards to processes relying on the activation of endoplasmic reticulum stress signaling pathways. It is well known that suppression of the function of IRE1/ERN1 (inositol requiring enzyme 1/endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1) branch of endoplasmic reticulum stress has been demonstrated to result in significant anti-proliferative effect in glioma growth. IRE1 regulates the transcription of a large number of genes through transcription factor XBP1 (X-box binding protein 1). Thus, the goal of our study was to evaluate the effect of hypoxia on the expression of genes that play an essential role in tumorigenesis, namely *IDH2* (isocitrate dehydrogenase (NADP+), *NNT* (nicotinamide nucleotide transhydrogenase), *SLC1A1* (solute carrier family 1 member 1), high-affinity mitochondrial glutamate transporters that also play an essential role in transporting glutamate across plasma membranes, *SLC1A3* (solute carrier family 1 member 3), glutamate transporter, also known as excitatory amino acid transporters (EAATs), and widely distributed throughout the brain, *SLC1A4* (solute carrier family 1 member 4), and SLC25A12 (solute carrier family 25 member 12), which controls glutamate transporter and gluconeogenesis, as well as microRNA miR-182-5p, which have specific binding sites in mRNA SLC1A1, in response to inhibition of endoplasmic reticulum stress signaling mediated by IRE1 in U87 glioma cells; identify binding sites for XBP1 and HIF transcription factors in promoter region of a subset of genes by bioinformatics analysis.

Methods. The expression level of the genes was studied in control and IRE1 knockdown U87 glioma cells under hypoxia by quantitative polymerase chain reaction. Statistical analysis was performed according to two-tailed

Student's t-test using Excel program and OriginPro 7.5. Besides, we used bioinformatics methods for identification of HIF- and XBP1-binding sites in the promoter region of cancer growth related genes.

Results and Discussion. It was shown that the expression level of *IDH2*, *NNT*, *SLC1A3*, and *SLC1A4* genes was up-regulated in IRE1 knockdown glioma cells in comparison with the control glioma cells. At the same time, inhibition of IRE1 endoribonuclease and protein kinase leads to down-regulation of *SLC1A1* gene expression. We also observed up-regulation of microRNA miR-182-5p, which has specific binding sites in mRNA *SLC1A1*, compared to the control glioma cells. Thus, there is negative correlation between decreased level of *SLC1A1* mRNA expression and increased level of microRNA miR-182-5p indicating possible post-transcriptional regulation of this mRNA expression. Moreover, we have shown that hypoxia enhanced the expression of *NNT*, *SLC1A1*, *SLC1A3*, and *SLC1A4* genes, while the expression level of *IDH2* gene remained unchanged. Furthermore, the knockdown of IRE1 signaling enzyme function modified the response of all studied gene expressions to hypoxia. The expression level of *IDH2*, *NNT*, *SLC1A3*, and *SLC1A4* genes was up-regulated under hypoxia in IRE1 knockdown glioma cells, while expression level of *SLC1A1* gene was down-regulated. Besides, binding sites for HIF and XBP1 transcription factors were found in most studied genes and some of these binding sites can recognize both transcription factors. Such binding sites were identified in *SLC1A1*, *SLC1A3*, and *SLC25A12* gene promoters and shown that knockdown of IRE1 eliminates hypoxic regulation of these genes.

Conclusions. The expression of all studied genes depends on IRE1 signaling enzyme function in gene specific manner, because inhibition of IRE1 significantly affects their expression. Results of our investigation demonstrate that hypoxia may affect the expression of genes through binding sites for HIF and XBP1. Therefore, IRE1 can modify the effect of hypoxia on numerous gene expressions through induction of XBP1 and interaction of HIF and XBP1 transcription factor in promoter. This regulation is possibly realized through binding sites with specificity to both transcription factor sites, which were identified in *SLC1A1*, *SLC1A3*, and *SLC25A12* gene promoters. The regulation of gene expression can be both transcriptional and post-transcriptional.

Acknowledgement. I would like to express my gratitude to all colleagues from the Department of Molecular Biology of the Palladin Institute of Biochemistry for their help in this study.

ЕКСПРЕСІЯ МІКРОРНК В ЕМБРІОНАХ DANIO RERIO ЗА ДІЇ ОДНОСТІННИХ КАРБОНОВИХ НАНОТРУБОК

**Юлія Єфімова, Ольга Рудницька, Дарья Цимбал, Олександр
Мінченко**

Інститут біохімії імені О.В. Палладіна Національної академії наук
України, Київ, 01601, Україна;
efimovaulia93@gmail.com

EXPRESSION OF MICRORNA IN DANIO RERIO EMBRYOS UNDER ACTION OF SINGLE-WALLED CARBON CARBON NANOTUBES

Yulia Yefimova, Olga Rudnytska, Dariia Tsymbal, Oleksandr Minchenko
Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The better understanding of mechanisms of carbon nanotubes action is of importance not only in the framework of promising therapeutic applications of carbon nanomaterials, but also required for careful assessment of potential exposure-related risks for human health. The exposure zebrafish embryos with SWCNT disturbed the development of the central nervous system, which correlates with dysregulation of the expression of most of the studied microRNAs showing the genotoxic and neurotoxic effects of these nanotubes.

Обґрунтування та мета. Метою є дослідження впливу одностінних карбонових нанотрубок на експресію мікроРНК, яка пов'язана з проліферацією клітин, імунною відповіддю, канцерогенезом та розвитком личинок *Danio rerio*. МікроРНК відіграють важливу роль у регуляції всіх метаболічних процесів, а також у розвитку мозку.

Дослідження дії одностінних вуглецевих нанотрубок є важливим і актуальним, адже нанотрубки здатні перетинати гематоенцефалічний бар'єр, проникати крізь клітинну мембрану та як наслідок, можуть накопичуватись в ядрі. Важливо зауважити, що карбонові нанотрубки не піддаються біологічному розкладанню, що, відповідно, обмежує їх застосування в біології та медицині, викликаючи занепокоєння щодо їх токсичної дії на клітини.

Методи. Провели відбір здорових ембріонів *Danio rerio* на стадії бластули. Одностінні карбонові нанотрубки, з діаметром у 1-2 нм, додавали у воду до кінцевої концентрації 2 та 8 нг/мл протягом 24 годин, на 3-й день розвитку ембріона. Розвиток личинок *D. rerio* спостерігали та зафіксували за допомогою зворотного мікроскопа, обладнаного цифровою камерою. Для проведення цього дослідження були відібрані такі мікроРНК: miR-7-5p, miR-19a-5p, miR-21-5p, miR-96-5p, miR-143-3p, miR-144-5p, miR-182-5p, miR-507-3p та miR-1283-5p.

Рівень експресії різних мікроРНК вимірювали за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (qPCR),

використовуючи “QuantStudio 5 Real-Time PCR System” (Applied Biosystems) та Absolute qPCR SYBRGreen mix. Рівень міРНК вимірювали за допомогою qPCR у реальному часі за допомогою набору Mir-q miRNA qRT-PCR SYBR Kit (Takara, Японія).

Концентрацію РНК, а також спектральні характеристики вимірювали за допомогою спектрофотометру NanoDrop One (Thermo Scientific). Якість продуктів ампліфікації визначали за допомогою аналізу кривих плавлення та електрофорезу з використанням 3% агарозного гелю. Аналіз кількісної ПЛР проводили за допомогою спеціальної комп’ютерної програми “Differential Expression Calculator”.

Результати. Одностінні вуглецеві нанотрубки у дуже низьких концентраціях порушували експресію мікроРНК та мРНК, які кодують різні важливі регуляторні фактори та ферменти, пов’язані з проліферацією клітин, апоптозом та канцерогенезом Зміни та вади у розвитку мозку ембріонів рибок за різних концентрацій (2 та 8 нг/мл) задокументовані у фотографію. Статистичні дані представлені в таблицях.

Висновки. Деформація розвитку мозку рибок, що викликана порушеннями експресії мікроРНК та мРНК, внаслідок дії одностінних карбонових нанотрубок, можливо, відображає їх нейротоксичний та генотоксичний ефект на розвиток *D. rerio*. Використання наноматеріалів у якості зондів для доставки протипухлинних ліків або іншого біомедичного застосування потребує більш детального вивчення та дослідження, адже небезпечні наслідки дії таких транспортерів можуть бути незворотніми.

ПРОДУКТИ ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІОМОЛЕКУЛ ЗА ІШЕМІЇ МІОКАРДА

**Алла Шевцова, Вікторія Ткаченко, Юлія Гордієнко, Олена Щукіна,
Олена Коваль**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпро, Україна
ashevtsova49@gmail.com

PRODUCTS OF OXIDATIVE MODIFICATION OF BIOMOLECULES IN MYOCARDIAL ISCHEMIA

Alla Shevtsova, Victoriya Tkachenko, Iuliia Gordiienko, Olena Shchukina, Olena Koval
SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine",
Dnipro, Ukraine

The analysis of glycation end products, their receptors, ischemic albumin and free DNA in patients with acute coronary syndrome and experimental myocardial ischemia was performed and their diagnostic value was shown.

Ішемічна хвороба серця посідає перше місце за показниками смертності та інвалідизації населення. За умов гострої або хронічної ішемії міокарда (ІМ) активуються процеси окисної модифікації функціонально важливих біомолекул, таких як білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти, що призводить до метаболічних порушень не тільки в серцевому м'язі, але й інших тканинах, та появі у кровообігу продуктів окисної модифікації (ПОМ). Ці продукти здатні не тільки порушувати структуру та функції біомолекул, але й брати участь у процесах сигналіngu.

Метою роботи було визначити ПОМ у плазмі крові та серцевому м'язі щурів з експериментальною ішемією міокарда та провести порівняльний аналіз з відповідними показниками у хворих на гострий інфаркт міокарда.

Матеріали та методи. У дослідженні використовували плазму та серце щурів ($n = 24$) з пітуїтрин-ізадринним ушкодженням міокарда (ПІУМ), а також зразки венозної крові 63 пацієнтів з гострим коронарним синдромом (ГКС) на різних етапах госпітального періоду. Рівень ішемічно модифікованого альбуміну (ІМА) досліджували за допомогою кобальт-зв'язуючого методу, флуоресціюючих кінцевих продуктів глікації (фКПГ) та вільної ДНК – за запатентованими нами методами, рецепторів до КПГ (RAGE) – за допомогою імуноблотингу, локалізацію КПГ, RAGE, та галектину у клітинах серця – за методом імуногістохімічного аналізу.

Результати. У хворих на ГКС спостерігались характерні зміни рівня ІМА та КПГ. Середній рівень ІМА в основній групі пацієнтів з ГКС без елевації сегмента ST, склав $0,39 \pm 0,1$ УО/мл, а у групі ГКС з елевацією сегмента ST – $0,71 \pm 0,19$ УО/мл у венозній крові, що було нижче його значень у коронарних артеріях ($P = 0,14$ та $P = 0,17$, відповідно). Рівень КПГ був вірогідно підвищеним у перший день спостереження хворих на ГКС і залишався підвищеним на 6-й день спостереження, причому зростання вмісту КПГ в гострий період у хворих, що надійшли з діагнозом ГКС без елевації сегмента ST, було асоційовано з більш частими епізодами нестабільності гемодинаміки та гіршою функцією нирок. Рівні КПГ та модифікованого альбуміну в крові та серці щурів з ПІУМ були також підвищеними. RAGEs та галектин локалізовані переважно в ендотелії серцевих судин, їхня щільність збільшується за умов ПІУМ.

Висновки. 1. Визначення ПОМ в крові хворих на ГКС дозволяє покращити стратифікацію й прогнозування перебігу хвороби. 2. За умов ішемії накопичуються КПГ та змінюється експресія RAGEs у клітинах серця, що свідчить про їхню участь у патогенезі ГКС.

ПРОТЕЇНкіназа ERN1 ЯК ВАЖЛИВИЙ РЕГУЛЯТОР ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ ЗА СТРЕСУ ЕНДОПЛАЗМАТИЧНОГО РЕТИКУЛУМА

Олена Хіта, Олександр Мінченко

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна Національної академії наук України,
м. Київ, Україна
olenariabovil@gmail.com

IRE1 KINASE AS AN IMPORTANT REGULATOR OF GENE EXPRESSION UNDER ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS

Olena Khita, Oleksandr Minchenko

Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Constitutive activation of endoplasmic reticulum stress is tightly connected to tumor growth. It was shown that ERN1 inhibition leads to significant anti-proliferative effect in glioma tumors through total reprogramming of thousands of genes related to proliferation, angiogenesis and apoptosis. A better understanding of the mechanisms underlying ERN1-dependent genome reprogramming is very important issue of modern biochemistry and oncopathology.

Вступ. Хронічна активація стресу ендоплазматичного ретикулума (ЕР) є характерною рисою пухлинних клітин, забезпечуючи їх адаптацію та виживання у жорстких умовах мікрооточення. Сенсорно-сигнальна молекула ERN1 запускає найбільш консервативний шлях стресу ЕР і володіє кіназною та ендорибонуклеазною активностями. В ряді досліджень було продемонстровано, що пригнічення ERN1-опосередкованого сигнального шляху призводить до зниження інтенсивності проліферації клітин гліоми шляхом тотального репрограмування тисяч генів, що кодують ензими та фактори, залучені у процеси проліферації, ангіогенезу та апоптозу. Саме тому, краще розуміння механізмів, що лежать в основі анти-проліферативного ефекту пригнічення ERN1, є вкрай необхідним. Одним із механізмів ERN1-залежної регуляції експресії генів є утворення транскрипційно активної форми фактору ХВР1 шляхом його альтернативного сплайсингу ендорибонуклеазою ERN1. В той же час, кіназна активність ензиму ERN1 вивчена ще недостатньо і в науковій літературі зазвичай розглядається лише в аспекті активації ендорибонуклеазного домену ERN1.

У зв'язку з цим, *метою роботи* було вивчити рівень експресії мРНК *ACO2, GLUD1, TUFM, TIMM44, TIMM17B, HSPA9B, PAM16* та *PDF*, що кодують протеїни мітохондрій, залучені у регуляцію проліферації та функціонального стану цих органел, у клітинах гліоми із повним та частковим пригніченням функції ERN1.

Методи. Дослідження рівня експресії мРНК *ACO2*, *GLUD1*, *TUFM*, *TIMM44*, *TIMM17B*, *HSPA9B*, *PAM16* та *PDF* проводили за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі, використовуючи три сублінії клітин гліоми лінії U87. Перша сублінія – контрольні клітини гліоми, стабільно трансфіковані «пустим» вектором рсDNA3.1, друга – клітини гліоми із повним (як кінази, так і ендорибонуклеази) пригніченням функціональної активності сигнального протеїну ERN1; третя – клітини із частковим пригніченням функції ERN1 в результаті надекспресії домінант-негативної кДНК-конструкції dnERN1. В якості індуктора стресу ендоплазматичного ретикулула використовували тунікаміцин.

Результати. Встановлено, що повна блокада функції ERN1 призводила до істотного пригнічення рівня експресії мРНК *TIMM44* і *PAM16* та навпаки, посилення експресії гена *GLUD1* у порівнянні із контрольними клітинами гліоми. В той же час, за умови пригнічення лише ендорибонуклеазної активності, не спостерігали змін в експресії даних генів, що свідчить про опосередкованість стрес-залежної регуляції експресії генів *TIMM44*, *PAM16* і *GLUD1* саме протеїнкіназою, а не ендорибонуклеазою сигнального протеїну ERN1. Експресія гена *PDF* змінювалась схожим чином як у контрольних клітинах гліоми, так і в клітинах із виключеною ендорибонуклеазною активністю ERN1, що вказує на ключову роль ендорибонуклеази в регуляції функції цього гена. У випадку генів *ACO2*, *GLUD1*, *TUFM*, *TIMM17B* та *HSPA9B*, спостерігали зниження рівня експресії їхніх мРНК у dnERN1-клітинах гліоми, і навпаки, зростання експресії цих генів у клітинах гліоми із частковим пригніченням ERN1. Таким чином, механізми регуляції експресії даної групи генів є більш складними і опосередковуються обома ензиматичними активностями ензиму ERN1. Більше того, індукція стресу EP тунікаміцином призводила до зростання рівня мРНК *ACO2*, *TIMM17B*, *HSPA9B* і *PAM16* у порівнянні із dnERN1-клітинами, що вказує на можливу участь інших систем стресу EP у регуляції експресії даних генів.

Висновки. Встановлено, що експресія усіх вивчених генів була залежною від функціональної активності сенсорно-сигнальної молекули ERN1, причому гено-специфічно. Більше того, виявлено різні механізми IRE1-залежної регуляції експресії генів, що опосередковуються як протеїнкіназою, так і ендорибонуклеазною активністю ERN1, а у випадку генів *ACO2*, *GLUD1*, *TUFM*, *TIMM17B* та *HSPA9B* – обома ензиматичними активностями ERN1, а також іншими сигнальними шляхами стресу EP. Крім того, вперше було показано, що протеїнкіназа ERN1, окрім участі в активації ендорибонуклеазного домену, також виступає важливим регулятором експресії генів у відповідь на стрес EP. Разом з тим, більш

глибокі механізми, які лежать в основі залежних від кінази змін експресії генів, потребують подальших досліджень.

ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ФАСЦИНУ, ВІМЕНТИНУ ТА Е-КАДГЕРИНУ У ВЛАСНІЙ ПЛАСТИНЦІ ТОВСТОЇ КИШКИ ПРИ ВЖИВАННІ ХАРЧОВОЇ ДОБАВКИ E407a ЩУРАМИ

**Антон Ткаченко, Галина Губіна-Вакулик, Оксана Наконечна
Ганна Полікарпова, Антолій Оніщенко**
Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна
antontkachenko555@gmail.com

CHANGES IN EXPRESSION OF FASCIN, VIMENTIN AND E-CADHERIN IN THE COLONIC LAMINA PROPRIA IN RATS ORALLY EXPOSED TO E407a

**Anton Tkachenko, Galina Gubina-Vakulyck, Oksana Nakonechna,
Ganna Polikarpova, Anatolii Onishchenko**
Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

Expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers, such as vimentin, fascin and E-cadherin, was analyzed immunohistochemically in the colon of rats orally exposed to semi-refined carrageenan (E407a) during 2 weeks. Immunostaining revealed a higher number of positive cells for all three markers in the colonic stroma of rats treated with E407a compared with controls.

Хвороба Крона (ХК) та виразковий коліт (ВК) характеризуються хронічним запаленням кишечника (Seyedian et al., 2019). Хвороби мають поліетіологічну природу й розвиваються під дією різноманітних факторів навколишнього середовища на фоні генетичної схильності. Одним з факторів ризику розвитку ХК та ВК є характер харчування, зокрема вживання харчових добавок. Відомо, що карагенани (E407 та E407a) викликають кишкове запалення та сприяють розвитку морфологічних змін у кишечнику, що спостерігаються при ХК та ВК (Tkachenko et al., 2020; Rizzello et al., 2019; Martino et al., 2017). Показано, що дієта, яка не містить карагенану, знижувала ризик рецидиву у хворих на ВК (Bhattacharyya et al., 2017). Відомо, що ХК та ВК супроводжуються активацією процесів епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП), що вносить вклад до розвитку фіброзу, оскільки при ЕМП епітеліальні клітини кишечника втрачають епітеліальні маркери (Е-кадгерин), набувають мезенхімальний фенотип (експресія фасцину та віментину), здатність рухатися та мігрують до стромы, де синтезують компоненти позаклітинного матриксу. Враховуючи роль ЕМП у патогенезі ХК та ВК, представляє інтерес

вивчити вплив карагенанів на експресію маркерів, пов'язаних з ЕМТ, у товстій кишці.

Метою роботи було вивчити особливості експресії маркерів ЕМП (фасцин, віментин, E-кадгерин) у власній пластинці товстого кишечника щурів на фоні вживання харчової добавки E407a (напівочищений карагенан).

Матеріали та методи. Статевозрілі щури популяції WAG, кількістю 16 осіб, у випадковому порядку розділені на дві рівні групи. Тварини дослідної групи перорально отримували розчин харчової добавки E407a у дозі 140 мг на кг ваги протягом 2 тижнів, у той час як щури контрольної групи вживали питну воду.

Маніпуляції проводили відповідно до міжнародних та національних біотичних положень щодо експериментів на тваринах. Після виведення тварин з експерименту проводився забір фрагментів товстої кишки для проведення імуногістохімічного дослідження з використанням антитіл до білків фасцину, віментину та E-кадгерину. Візуалізація проводилась за допомогою «UltraVision™ Quanto Detection System HRP DAB» («Thermo Fischer Scientific», США) на мікроскопі «Axiostar-plus» («Zeiss», Німеччина). Аналізували кількість позитивних клітин для кожного маркера на одиницю площини (250x250 мкм), а також співвідношення між клітинами, що експресують відповідний маркер, та тими, що не експресують. У кожному препараті оцінювалось 5 зон. Результати порівнювались за допомогою розрахунку t критерію Стьюдента.

Результати. Встановлено, що вживання напівочищеного карагенану призводить до змін експресії маркерів ЕМП, а саме фасцину, віментину та кадгерину у стромі товстої кишки. У тварин дослідної групи статистично достовірно ($p < 0.0001$) підвищувалася кількість фасцин-позитивних (13.7 ± 0.6 проти 4.1 ± 0.3 у контролю), віментин-позитивних (11.3 ± 0.6 та 4.6 ± 0.4 відповідно) та E-кадгерин-позитивних клітин (9.6 ± 0.6 проти 4.0 ± 0.3) у стромі. Вживання карагенану призводило також до змін співвідношення клітин, що експресують вищезазначені маркери ЕМП, та тих, що їх не експресують. Показано, що співвідношення фасцин⁺ / фасцин⁻ клітин більш ніж у 6 разів вище у дослідної групи у порівнянні з контролем. Для віментину та E-кадгерину цей показник був вище приблизно у 2,5 рази.

Висновки. Пероральне вживання харчової добавки карагенан призводить до підвищення експресії фасцину, віментину та E-кадгерину у стромі товстого кишечника щурів, що свідчить про збільшення мезенхіальних та/або ЕМП клітин у власній пластинці товстої кишки на фоні вживання E407a.

ВПЛИВ ПІДВИЩЕНОЇ МАСИ ТІЛА ТА ОЖИРІННЯ НА СТАН СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ

Людмила Колінько

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава, Україна
ludmilakolinko17@gmail.com

INFLUENCE OF OVERWEIGHT AND OBESITY ON THE CONDITION OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM AND ENERGY POTENTIAL

Liudmyla Kolinko

Ukrainian Medical Dental Academy, Poltava, Ukraine

Recently, the prevalence of overweight and obesity has increased significantly in people of all ages. Increased body weight throughout life, from childhood and adolescence to adulthood, is associated with increased systolic and diastolic blood pressure, irregular heartbeat, the development of dyslipidemia, increased levels of acute-phase reactants and other changes in laboratory parameters.

Актуальність. Поширеність підвищеної маси тіла та ожиріння останнім часом значно зросла у осіб різного віку. Підвищена маса тіла протягом життя, починаючи з дитячого та підліткового до дорослого віку асоціюється з підвищеним систолічним та діастолічним артеріальним тиском, порушенням частоти серцевих скорочень, розвитком дисліпідемії, підвищенням рівня реактантів гострої фази та інших змін лабораторних показників. Метою нашого дослідження стало визначення стану функціональних показників серцево-судинної системи та енергетичного потенціалу у осіб із різною масою тіла.

Матеріали і методи. У дослідженні прийняли участь особи обох статей віком 18-25 років. За даними антропометричних вимірювань сформовані три групи по 32 особи: контрольна з індексом маси тіла (ІМТ) 18,50 – 24,99 кг/м², група з підвищеною масою з ІМТ 25,00 – 29,99 кг/м², група з ожирінням І ступеня з ІМТ 30,00 – 34,99 кг/м². Всі групи були збалансовані за статтю. Визначали частоту серцевих скорочень (ЧСС), систолічний (САТ), діастолічний (ДАТ) та пульсовий (ПТ) артеріальний тиск у стані спокою та після проби з дозованим фізичним навантаженням. Оцінку енергетичного потенціалу проводили за індексом Робінсона. Результати оброблені статично.

Результати. Визначено, що у осіб чоловічої та жіночої статі з ожирінням І ступеня у стані спокою спостерігалось достовірне підвищення показників ЧСС, САТ та ДАТ. Після проби з фізичним навантаженням у осіб чоловічої статі з підвищеною масою тіла відмічено збільшення показників ЧСС на 12,59%, САТ на 8,71%, жіночої статі - ЧСС на 14,21% у

порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$). У осіб чоловічої статі з ожирінням I ступеня достовірно підвищувався рівень ЧСС на 14,08%, САТ на 15,83% та ПТ на 27,70%, у жінок рівень ЧСС підвищувався на 14,27% САТ на 11,69% та ДАТ на 13,24% у порівнянні з особами з нормальною масою тіла ($p < 0,05$). Показник індексу Робінсона у осіб чоловічої статі з підвищеною масою тіла був достовірно вищим на 13,88%, з ожирінням I ступеня на 19,17%, ніж у осіб контрольної групи. У жінок з ожирінням I ступеня показник індексу Робінсона був вище на 16,90% у порівнянні з групою з нормальною масою тіла ($p < 0,05$).

Зроблено висновок про зниження функціональних можливостей серцево-судинної системи у осіб чоловічої статі з підвищеною масою тіла та осіб з ожирінням обох статей. Такий стан потребує фізіологічної корекції шляхом зменшення споживання нутрієнтів та підвищення витрат енергії, одним із шляхів якої може бути збільшення фізичної активності досліджуваних осіб.

ВПЛИВ НЕЙРОТОКСИНУ II НА ВИСОКОПРОВІДНІ КАТІОННІ КАНАЛИ ЯДЕРНОЇ МЕМБРАНИ

Анна Котлярова, Олена Котик, Сергій Марченко

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ, Україна

annkotliarova@gmail.com

THE EFFECT OF NEUROTOXIN II ON THE LARGE CONDUCTANCE CATIONIC CHANNELS OF THE NUCLEAR MEMBRANE

Anna Kotliarova, Olena Kotyk, Serhiy Marchenko

Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Purified Neurotoxin II – venom from *Naja oxiana*, at concentration 25 μM reduces amplitude of K^+ -current through LCC-channels by 13 %.

Вивчення фізіологічної ролі каналу того чи іншого типу можливе лише за наявності його блокатора. Пошук такої речовини іноді є дуже тривалим, але її ідентифікація стає тригером для подальшого дослідження функціональних властивостей каналу, його взаємодії з іншими транспортувальними системами. Предметом дослідницьких інтересів нашої наукової групи є встановлення такого специфічного блокатора для, відкритих у 2005 р. (Marchenko et al., 2005), високопровідних катіонних каналів (ЛСС-каналів) ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка, котрі є найпоширенішими спонтанно активними каналами ядерної мембрани, селективними до одновалентних катіонів. Наявність каналів цього типу

згодом була підтверджена у ядерній мембрані нейронів CA1-ділянки гіпокампа (Fedorenko et al., 2010), кардіоміоцитів (Котик та ін., 2018) та ін.

Враховуючи, що в історичному аспекті, часто саме природні токсини були ідентифіковані як блокатори каналів різного типу, пошуки розпочато саме з дослідження впливу фракцій отруту. Зокрема, раніше з'ясовано, що фракції отрути гадюк *Vipera renardi* та *Bitis arietans*, кобри *Naja kaouthia* суттєво (до 85%) зменшували ймовірність перебування LCC-каналів у відкритому стані, в цей час як отрута скорпіона *Heterometrus laoticus* та отрута крайта *Bungarus fasciatus* зменшували середню амплітуду K^+ -струму через ці канали на 25 і 50 % відповідно (Lunko et al., 2018). Однак, раніше досліджені речовини були у формі неочищених фракцій, що унеможливило оцінку концентрації діючої речовини у їх складі і тим самим виявлення частки впливу тої чи іншої складової такої фракції. Метою цієї роботи було дослідити вплив очищеного препарату нейротоксину II на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів.

Дослідження виконано на щурах лінії *Wistar* віком 3 тижні з дотриманням усіх положень Європейської Конвенції із захисту тварин, яких використовують в експериментах (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та положень Комітету з біоетики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Ізольовані ядра нейронів Пуркінє мозочка та кардіоміоцитів виділяли гомогенізацією, як описано раніше (Marchenko et al., 2005; Котик та ін., 2018). Струми крізь окремі канали реєстрували методом patch-clamp у конфігурації nucleus attached або excised patch в режимі фіксації потенціалу, у розчині такого складу (ммоль/л): KCl – 150, NEPES – 8, NEPES-калієва сіль – 12, EGTA – 1 (pH 7,2) з використанням підсилювача Visual-Patch 500 («Bio-Logic», Франція). Візуалізацію ядер здійснювали за допомогою інвертованого мікроскопа («LEICA DM IRB», Німеччина), та CCD камери VX 45 Microscope (PCO Computer Optics, Німеччина). Діючу речовину – нейротоксин II, у концентрації 1 – 25 мкмоль/л вносили безпосередньо у камеру з об'єктом, враховуючи кінцеве розведення. Первинну обробку, аналіз результатів та визначення основних біофізичних характеристик функціонування каналу (середній струм через канал та ймовірність його перебування у відкритому стані) здійснено за допомогою програм *Clampfit 10.7* та *Origin Pro 9.1*. Достовірність різниці між статистичними групами оцінювали на основі t-критерію Стюдента, зміну з $P \leq 0,05$ вважали статистично достовірною. Ймовірність перебування каналу у відкритому стані оцінювали на основі амплітудних діаграм.

Нейротоксин II – речовина, виділена з отрути кобри *Naja oxiana*, раніше ідентифікована як інгібітор N-холінорецепторів. Додавання до розчину з досліджуваним об'єктом нейротоксину II у концентрації 1

мкмоль/л не супроводжувалося жодними статистично достовірними змінами функціонування LCC-каналів. При цьому провідність каналів, середня амплітуда струму крізь них, ймовірність перебування каналів у відкритому стані залишалися незмінними, не спостерігали також ефекту «миготіння каналу», котрий свідчив би про його механічне блокування під час перебування у відкритому стані. Однак, у концентрації 25 мкмоль/л, нейротоксин II достовірно зменшував амплітуду K^+ -струму через LCC-канали на 13 % порівняно з контролем ($n = 5$; $P \leq 0,05$), не змінюючи при цьому ймовірності перебування цих каналів у відкритому стані.

Нейротоксин II наразі є відносно найбільш ефективним інгібітором LCC-каналів ядерної мембрани серед перевірених зміїних токсинів, але значно менш ефективним, ніж раніше досліджені нами класичні блокатори N-холінорецепторів – тубокурарин (Лунько та ін., 2016; Котик та ін., 2017), броміди рокуронію та піпекуронію (Котлярова та ін., 2019), атракуріум і дитилін (Котик та ін., 2017) та ін.

Отримані результати матимуть важливе значення для дослідження особливостей молекулярної динаміки LCC-каналів, пошуку більш ефективних інгібіторів цих каналів, що стане основою для подальшого з'ясування їх структури та фізіологічної ролі.

Подяки: автори висловлюють вдячність акад. НАН України, д.б.н. Скок М.В. за надання нейротоксину II, пану Шота Хаджишвілі за спонсорську допомогу для закупівлі боросилікатних заготовок, студентам Тарнопольській О. та Зоркот Л. за допомогу при виконанні експериментів.

ПЛЕНАРНА СЕСІЯ 3. КЛІТИННА БІОЛОГІЯ PLENARY SESSION 3. CELL BIOLOGY

MURAMYL PEPTIDE ISOLATED FROM *LACTOBACILLUS BULGARICUS* INHIBITS GLIOBLASTOMA U373MG CELL MIGRATION AND UPREGULATE CELLULAR REACTIVITY

Sidika Acikgoz¹, Giyasettin Baydas², Can Ali Agca¹, Victor Nedzvetsky^{1,3}

¹Bingol Univesrity, Bingol, Turkey, e-mail: acikgozsdkaa@gmail.com

²Altinbas University, Istanbul, Turkey

³Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Background and aim. The Muramyl peptides (MPs) are the main component of bacterial walls into peptidoglycan's structure. Peptidoglycan is confirmed as one of the important natural sources of bioactive compounds that are potent to stimulate both innate immunity and exhibit anti-cancer activity in various cell types. The enzymatic cleaving of bacterial peptidoglycan generates

the biology active fragments containing N-acetylmuramyl peptides named muropeptides. Muramyl pentapeptide is the biggest muropeptide which contains the longest aminoacid chain. Anti-tumor effects of different muropeptides were reported for various tumor types including sarcoma, leukemia, melanoma and lung cancer. All of aforementioned activities are mediated by specific stimulation of MPP-specific cell surface and intracellular receptors. Furthermore, MPP-induced cell response leads to metabolic energy expenditure via binding TLR and the NOD(1-2) which are members of the pattern recognition receptors for bacterial peptidoglycan. NODs sense distinct monomeric peptidoglycan (PGN) fragments and constantly interact with the actin cytoskeleton, which facilitates their rapid relocalization upon stimulation. Another sensor of MPP is Hexokinase which controls metabolic energy production. Besides NOD stimulation initiates the transcriptional regulation through NF- κ B in various cell types. Thus, MPP could be a new molecular tool to regulate cellular response and energy expenditure. Every MPP-dependent signaling is related to the stimulation of various pathways and energy consumption. It is hypothesized that MPP stimulation of cancer cells could deplete metabolic energy through the upregulation of several mechanisms of cellular response.

As a rule, tumoricidal activity of muropeptides is accompanied by the modulation cytokines and chemokines production. Elevated cytokines production can initiate either cell surviving or cell death depending on the power and the duration of stimuli. The inhibition of the glial cell viability by stimulation with proinflammatory factors is a well-known phenomenon. Glial cells exhibit reactivity via NF- κ B upregulation. NF- κ B is one universal adaptor of cellular response by cytokines production. Another widespread regulator of cell reactivity is PARP which provides the regulation of cell function via ADP-ribosilation to control various vital functions. Furthermore, PARP can serve as a coactivator of NF- κ B and modulate its transcriptional activity. Unique muropeptide stimulus can induce functional cooperation of PARP and NF- κ B in course of cell response. In addition, the cellular response which is accompanied by extensive activation of both NF- κ B and PARP can initiate cell death via dysregulation in cytokines production and extended metabolic energy expenses.

Glioma is a prevailing brain cancer type of astrocyte-derived tumors. Glioblastoma is most aggressive grade of the gliomas among brain tumors. Glioblastoma cells have a high rate of migration and extremely potent to invasion. Therefore, the search for agents with anti-migration activity is actual to limit glioma aggressiveness. Taking into account that muropeptide exposure could initiate in glioma cells abnormal cellular response, it hypothesized as anti-invasive tool to suppress aggressive glioma phenotype. The study was to elucidate the role of PARP1 and NF- κ B in anticancer effect of muramyl pentapeptide from *Lactobacillus delbrueckii* strain in glioma U373MG cells.

Methods. MPP (MurNAc-l-Ala-d-Glu-l-Lysd-Ala-d-Ala) was isolated and purified from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. Cell viability was determined with MTT assay. Metabolic energy production was estimated by NADPH measuring. PARP1 and NF-κB expressions were detected by western blot. Cytotoxic effect of MPP was characterized in vitro with cell viability and migration scratch-assay.

Results. The metabolic energy deficit in glioblastoma cells initiated by the exposure to 25 µg/ml - 200 µg/ml MPP was determined as dose-dependent decrease in NADPH content. Cytotoxic effect of MPP was characterized in vitro with cell viability and migration scratch-assay. The results of cell viability measuring in control and treated with MPP glioblastoma U373MG cells showed a dose-dependent cytotoxic effect. The results on the impact of MPP onto U373MG cells migration test in a course of scratch-assay have shown a dose-dependent effect in a range of concentration from 25 to 200 µg/ml.

The PARP1 expression in control and exposed to MPP glioblastoma U373MG cells was upregulated except the lowest dose exposure. The results of NF-κB expression in control and exposed to MPP glioblastoma U373MG cells have shown an increase in almost all treated cell groups.

Conclusion Muramyl pentapeptide exposure induces disturbances in NADH content, inhibits migrative capability and upregulates PARP1 and NF-κB expression in glioblastoma U373MG cells. Obtained results evidence that muramyl pentapeptide could initiate a lack of migration via metabolic energy expenditure.

ЕКСПРЕСІЯ ЛАКТОФЕРИНУ ЛЮДИНИ В ТРАНСГЕННИХ РОСЛИНАХ ТОМАТІВ ТА КАРТОПЛІ ПІДВИЩУЄ ЇХ СТІЙКІСТЬ ДО ФІТОПАТОГЕНІВ

Анастасія Бузіашвілі, Алла Ємець

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ,
Україна

buziashvili.an@gmail.com

EXPRESSION OF HUMAN LACTOFERRIN IN TRANSGENIC TOMATO AND POTATO PLANTS ENHANCE THEIR RESISTANCE TO PHYTOPATHOGENS

Anastasiia Buziashvili, Alla Yemets

Institute of food biotechnology and genomics NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Lactoferrin is a multifunctional mammalian antimicrobial protein which is mainly contained in milk and colostrum. Lactoferrin genes are widely used in plant genetic engineering. In this work, resistance of obtained in previous studies transgenic tomato and potato lines expressing human lactoferrin was shown to bacterial (*Clavibacter michiganensis*,

Ralstonia solanacearum) and fungal (*Phytophthora infestans*, *Fusarium sambucinum*) phytopathogens.

Обґрунтування та мета. Лактоферин – багатофункціональний антимікробний білок із родини трансферинів, який є компонентом неспецифічного природного імунітету та міститься у великій кількості у молоці, молозиві та інших секреторних рідинах ссавців. Завдяки численним корисним властивостям (антибактеріальна, фунгіцидна, противірусна та ін.) та гіпоалергенності даного білка, гени лактоферину є перспективними для використання в генетичній інженерії цінних сортів рослин для підвищення їх стійкості до біотичних факторів. Раніше нами було отримано трансгенні лінії томатів сортів Money Maker та Лагідний та картоплі сортів Вернісаж, Світанок Київський, Левада та Зарево, що експресують лактоферин людини, проведено їх молекулярно-біологічний та біохімічний аналіз за використання методів ПЛР та Вестерн блот гібридизації. Отже, метою даної роботи було дослідження стійкості трансгенних ліній томатів та картоплі, отриманих у попередніх дослідженнях, до небезпечних бактеріальних (*Clavibacter michiganensis*, *Ralstonia solanacearum*) та грибних (*Phytophthora infestans*, *Fusarium sambucinum*) фітопатогенів.

Методи. Стійкість трансгенних ліній томатів та картоплі до бактеріальних патогенів досліджували за використання методу дифузії в агарі.

Стійкість трансгенних ліній томатів до фітофторозу, картоплі до фітофторозу та фузаріозу визначали за використання методів дифузії в агар та зараження асептичних рослин в умовах *in vitro*.

Для проведення тесту дифузії в агар, зразки соку із трансгенних та контрольних ліній рослин вносили в лунки у живильному середовищі КДА, по центру чашек Петрі розміщували диски живильного середовища із міцелієм *P. infestans* або *F. sambucinum*. Чашки Петрі культивували протягом 10 днів при +28°C та аналізували результати біотесту.

Стійкість трансгенних та контрольних асептичних рослин томатів до фітофторозу, картоплі – до фітофторозу та фузаріозу в умовах *in vitro* визначали через 8 днів після їх зараження суспензією конідій. Стійкість оцінювали за 9-бальною шкалою: 9 балів – відсутність ураження, 8 – відсутність симптомів на стеблах та ураження 5% листків, 6-7 – відсутність симптомів на стеблах та ушкодження 5-25% листків, 4-5 – ознаки ураження на 25% стебел та 25-50% листків, 2-3 – ушкодження 25-50% поверхні стебел та 50-75% листків, та 1 бал – пошкоджено більш ніж 75% поверхні всієї рослини.

Результати. В результаті тестів дифузії в агар було відмічено зони затримки росту на культурах бактерій *R. solanacearum* та *C. michiganensis* навколо дисків фільтрувального паперу, на які наносили сік трансгенних

ліній томатів а картоплі. Також, було виявлено затримку росту міцелію та утворення конідій *P. infestans* навколо лунок, у які вносили зразки соку трансгенних рослин томатів та картоплі, та затримку росту міцелію *F. sambucinum* навколо лунок, в які вносили зразки трансгенних ліній картоплі. Бактерицидну та фунгістатичну активність соку нетрансгенних ліній не було відмічено.

Також, в результаті зараження в умовах *in vitro* було показано підвищення стійкості трансгенних ліній томатів та картоплі до *P. infestans* з 1 до 7 балів, та трансгенних ліній картоплі до *F. sambucinum* з 2 до 7 балів за 9-бальною шкалою.

Висновки. В даній роботі було показано бактерицидний та фунгістатичний ефект соку трансгенних рослин томатів сортів Money Maker та Лагідний та картоплі сортів Вернісаж, Світанок Київський, Левада та Зарево, що є результатом експресії лактоферину людини. Також, було показано підвищення стійкості трансгенних ліній томатів та картоплі до фітофторозу та фузаріозу в умовах *in vitro*. Отримані результати вказують на те, що використання генетичної трансформації рослин геном лактоферину людини є перспективним підходом до підвищення стійкості цінних сортів рослин до широкого спектру бактеріальних та грибних фітопатогенів.

ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАМІКРОСКОПІЧНОЇ БУДОВИ КЛІТИННИХ ПОПУЛЯЦІЙ СЕЛЕЗІНКИ ПТАХІВ

**Оксана Дунаєвська, Ольга Ренкеу, Есфірь Тарасенко,
Катерина Кучинська, Ігор Сокульський¹**

Житомирський базовий фармацевтичний фаховий коледж, Житомир,
Україна; ¹Поліський національний університет, Житомир, Україна

Oksana_fd@ukr.net

PECULIARITIES OF ULTRAMICROSCOPIC STRUCTURE OF BIRDS SPLENIC CELL POPULATIONS

**Oksana Dunaievskaya, Olga Renkeu, Esther Tarasenko, Kateryna Kuchynska, Ihor
Sokulskyi**

Zhytomyr College of Pharmacy, Zhytomyr, Ukraine; ¹Polissya National University,
Zhytomyr, Ukraine

The spleen is a vital organ that is sensitive to changes in the parameters of the internal and external environment. Histological sections were obtained after fixation of the material in glutaraldehyde. Ultramicroscopic studies revealed the peculiarities of cell structure in birds: pigeons, chickens, quail. For the formed elements of the blood of the quail are characterized by large nucleoli of cell nuclei.

Селезінка – це непарний орган, який зустрічається у всіх хребетних тварин, і єдиний орган імунної системи, що знаходиться на шляху течії крові з аорти в систему ворітної вени, що дає підстави називати її фільтром кровоносної системи. Селезінка виконує також очисну, імунну, кровотворну, депонувальну функції. Селезінка чутлива до впливу чинників різного генезу, тому її дослідження є актуальними та використовуються як маркер у біомоніторингу.

Селезінку досліджували у птахів обох статей у співвідношенні 1:1 у фазі морфофункціональної зрілості органа: голуба сизого (вік 10–14 місяців), курки домашньої породи полтавська глиняста (вік 19–20 тижнів), перепілки звичайної (вік 7–8 тижнів). Для електронномікроскопічного вивчення селезінки забір проводили відразу після розтину грудочеревної порожнини. Матеріал фіксували 2,5 % розчином глютарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією у 1 % розчині чотирьохоксиду осмію за Колфільдом, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності та ацетоні, заливали у суміш епон-аралдит. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультратомі Reihart (Австрія), контрастували 2 % розчином ураніацетату та цитратом свинцю і досліджували на електронному мікроскопі ПЕМ-125К при збільшеннях в 4-20 тисяч разів. Морфометричні дослідження проводили на напівавтоматичному пристрої обробки графічних досліджень за допомогою програми «Органела». Під час проведення досліджень дотримувались основних правил належної лабораторної практики GLP (1981 р.), положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (м. Київ, 2001 р.), вимог міжнародних принципів «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовують в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.), «Правилами проведення робіт з використанням експериментальних тварин» (наказ МОЗ №281 від 01.11.2000 р.) «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин» та відповідного ЗУ «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.). Протокол досліджень схвалено комісією з біоетичної експертизи і дозволено у Поліському національному університеті.

Електронномікроскопічне дослідження селезінки курки, показало, що у центрі лімфатичного вузлика розміщені лімфобласти, переважно ядерного типу, з великим округлим ядром та аутофагосоми. На його периферії розміщуються лімфоцити, макрофаги та плазмоцити. У трабекулах розміщуються електроннощільні фібробласти, поодинокі гладкі м'язові клітини. У цитоплазмі В-лімфоцитів добре розвинена ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, мітохондрії, ліпідні включення. Для Т-лімфоцитів характерне велике, у порівнянні з цитоплазмою, ядро, у цитоплазмі розміщуються поодинокі мітохондрії, рибосоми, самі ж

клітини невеликого розміру і розміщені у оточенні ретикулярних клітин. Цитоплазма макрофагів наповнена лізосомами та апоптозними тільцями. Периваскулярно розміщені ретикулярні клітини, Т-лімфоцити, відростки інших клітин. У просвіті посткапілярів є зрілі еритроцити з ядром та фрагменти еритробластів. У реактивному центрі білої пульпи селезінки голуба особливих відмінностей від попередніх досліджень не спостерігається. Разом з тим, у лімфобластах та клітинах, які диференціюються (лімфоцити чи макрофаги) відмічається підвищення кількості аутофагосом та гранул, які представляють собою первинні лізосоми. У маргінальній зоні виявляються не тільки лімфоцити, а і еритроцити та еозинофіли. Дослідження ультраструктурної організації селезінки перепілки показало наявність деяких відмінностей від селезінки голуба і, особливо, курки. Практично у всіх формених елементах крові ядра містять надто крупні ядерець. Найбільших розмірів ядерець досягають у плазматичних клітинах. Збільшення розмірів ядерець у перепілок характерно не тільки для лімфобластів, а й диференційованих лімфоцитів, плазмоцитів, макрофагів та деяких фібробластів. Просвіти синусів заповнені форменими елементами крові та плазмою з невеликою кількістю лімфоцитів і моноцитів. Ендотелій венозних синусів може приймати участь у фагоцитозі, про що свідчить наявність у ньому аутофагосом та залишкових тілець.

Таким чином, для ультрамікроскопічної будови селезінки птахів притаманні не лише спільні, але й відмінні риси, які здебільшого зумовлені збільшенням розмірів та кількості субодиниць клітин.

**DOWN-REGULATION OF ADAPTOR PROTEIN RUK/CIN85 IN
LEWIS LUNG CARCINOMA CELLS INDUCES SELECTIVE
RESPONSES ACROSS METABOLIC NETWORKS ASSOCIATED
WITH SUPPRESSION OF WARBURG EFFECT**

**Olha Hudkova, Nely Latyshko, Tetiana Skaterna, Denys Gerashchenko,
Ruslan Korshun, Kateryna Tokarchuk, Tetiana Kishko, Iryna Krysiuk,
Olha Khudiakova, Iryna Horak, Liudmyla Drobot**

Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Science of Ukraine,
Kyiv, Ukraine

drobot@biochem.kiev.ua

To date, it has been convincingly established that carcinogenesis is based on the existence of systemic interactions between numerous genetic events and epigenetic alterations that lead to global nuclear and metabolic reprogramming of tumor cells. Among all cancers, lung cancer has the highest morbidity and

mortality rate worldwide despite advances in early diagnosis and development of modern therapeutic approaches over the past decades. The main cause of cancer deaths remains recurrence of tumors and distant metastases. Our previous data demonstrated the interdependence between tumors progression to metastatic state and increased expression levels of adaptor/scaffold protein Ruk/CIN85, particularly in lung cancer. A high amount of this adaptor was detected by us in aggressive Lewis lung carcinoma cells (LLC cells). The acquisition of malignancy signs by cancer cells is closely correlated with their metabolic characteristics relying on the switch from oxidative phosphorylation to aerobic glycolysis (a.k.a. Warburg effect) for energy needs and anabolic processes. The current study aims to unravel the interplay between Ruk/CIN85 down-regulation in LLC cells and changes in their metabolism related to Warburg effect.

As a model, we used LLC cells with stable knockdown of Ruk/CIN85 (subline LLC-B1 and their respective control Scr cells). Content of H₂O₂, protein SH-groups, aldehydes, TBA-products, and lactate as well as activities of lactate dehydrogenase A (LDHA), aldehyde dehydrogenase (ALDH), lysyl oxidase (LOX), semicarbaside sensitive amine oxidase (SSAO), diamine oxidase (DAO), polyamine oxidase (PAO), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), and superoxide dismutase (SOD) were estimated fluorometrically and spectrophotometrically using microplate readers FL×800 and μQuant (USA).

It was demonstrated that LLC subline B1 with Ruk/CIN85 down-regulation acquired the metabolic features associated with suppression of aggressive phenotype. Namely, in LLC B1 cells, the level of LDH A activity and the content of lactate in the conditioned medium, the main markers of aerobic glycolysis, were reduced compared to these values in LLC Scr cells by 2 and 1.5 times, respectively, indicating a relationship between the expression level of the adaptor protein and the intensity of aerobic glycolysis in tumor cells. The activity of ALDH, as one of the main markers of chemoresistance of cancer stem cells, in B1 cells decreased by about 2 times while the content of aldehydes did not change compared with control Scr cells. The activities of all amine oxidases investigated were significantly (2-3 times) reduced in Ruk/CIN85 knockdown LLC cells. It was shown that LOX and SSAO are involved in the control of the structural and functional state of the extracellular matrix, and the levels of activity of these enzymes correlate with the degree of malignancy. On the other hand, DAO and PAO metabolize lower (putrescine) and higher (spermidine, spermine) polyamines, respectively. There is experimental evidence of polyamines involvement in the regulation of cell cycle, cells proliferation and differentiation. In relation with results of our study, it is important to draw attention to an established fact that cancer progression is usually accompanied by an increase in the content of putrescine. The metabolic

network that maintains the redox balance in cancer cells plays a key role in carcinogenesis, especially at the stage of metastatic spread of cancer stem cells. It was shown that in LLC B1 cells there was a decrease in the level of H₂O₂ in 2 times in comparison with control cells, which corresponds to a decrease in the activity of all studied amine oxidases as a source of this metabolite. In addition, another source of H₂O₂ in cells, superoxide dismutase (total activity of mitochondrial and cytosolic enzymes) was also significantly reduced in 1.4 times in B1 cells. Accordingly, the activities of enzymes utilizing H₂O₂, catalase (in 2.5 times) and glutathione peroxidase (in 2 times) were significantly reduced. The total content of protein thiol groups and TBA-active products tended to decrease in cells with reduced expression of the adaptor protein Ruk/CIN85 compared to Scr cells.

Taken together, the results obtained indicate that down-regulation of adaptor protein Ruk/CIN85 in Lewis lung carcinoma cells induces selective responses across metabolic networks associated with suppression of Warburg effect.

ADAPTOR PROTEIN RUK/CIN85 IS A POTENTIAL DRIVER OF METABOLIC REPROGRAMMING IN BREAST CANCER CELLS

Iryna Horak, Nely Latyshko, Olha Hudkova, Kateryna Tokarchuk, Tetiana Kishko, Iryna Krysiuk, Olha Khudiakova, Tetiana Skaterna, Liudmyla Drobot

Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,
Kyiv, Ukraine

iryna.horak@gmail.com

Background and aim. In order to maintain the ability of uncontrolled proliferation, survival, and motility, cancer cells require supporting three basic needs: fast ATP supply, intensification of biosynthetic processes, and control of redox status. The tendency of cancer cells to generate ATP via glycolysis, but not oxidative phosphorylation, even in the presence of oxygen, is known as Warburg effect. In order to maintain high biosynthetic potential, cancer cells activate cytosolic NADPH-generating processes such as pentose phosphate pathway (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH), malic enzyme (ME1), isocitrate dehydrogenases 1 (IDH1). Finally, cancer cells need to increase activities of antioxidant enzymes: catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), Cu,Zn-superoxide dismutase (SOD1) etc. as well as content of reactive oxygen species (ROS) scavengers (glutathione, thioredoxine) in order to prevent oxidative stress. Our previous studies demonstrated that high expression levels of adaptor protein Ruk/CIN85 in breast cancer cells were associated with transcriptomic reprogramming associated with increased invasiveness,

chemoresistance, and metastasis. The aim of this study was to investigate the effect of Ruk/CIN85 on metabolic changes in breast cancer cells.

Methods. As a model, we used mouse breast adenocarcinoma 4T1 cells with stable overexpression and knockdown of Ruk/CIN85. Content of H₂O₂, protein SH-groups and lactate as well as activities of CAT, GPx, SOD1, lactate dehydrogenase A (LDHA), IDH 1/2/3, malate dehydrogenase 2 (MDH2), G6PDH were estimated fluorometrically and spectrophotometrically using microplate readers FL×800 and μQuant (USA). mRNA expression levels were estimated by RT-qPCR.

Results. It was found that expression levels of Aldoa and Ldha, as well as LDHA activity and lactate content were increased significantly in Ruk/CIN85-overexpressing 4T1 cells. In contrast, Ruk/CIN85 knockdown led to decrease in Aldoa, but other parameters were not changed significantly. These findings indicate that Ruk/CIN85-overexpressing cells use predominantly glycolysis for energy supply. In addition, we analyzed the activity of several enzymes of the TCA cycle (IDH3 and MDH2) and found an inverse correlation between their activities and Ruk/CIN85 expression. To evaluate the NADPH-generating potential of cancer cells, we measured activities of G6PDH, ME1, total IDH1,2. It was demonstrated that in 4T1 cells with Ruk/CIN85 overexpression activities of ME1 and G6PDH were increased significantly, while activities of total IDH1,2 were decreased. In 4T1 cells with Ruk/CIN85-downregulation, IDH1/2 activities were significantly increased. These results indicate that overexpression of Ruk/CIN85 is likely to shift the main role in NADPH production to cytosolic enzymes. Analysis of the main components of antioxidant system revealed increased amount of H₂O₂ together with decreased activities of CAT, GPx and SOD1, as well as content of protein SH groups in 4T1 cells with overexpression of Ruk/CIN85. An excess of ROS may cause moderate oxidative stress in these cells or possibly perform signaling functions as second messenger. In Ruk/CIN85-downregulated 4T1 cells we did not find any changes in antioxidant enzymes activities, but the content of protein SH groups was increased significantly.

Conclusion. Taken together, obtained results demonstrate that adaptor protein Ruk/CIN85 is involved in metabolic changes associated with cancer progression.

ТЕЗИ
Стендові доповіді
(за алфавітом першого автора)

ABSTRACTS
Posters
(in alphabetical order, first author)

1. НЕЙРОБІОЛОГІЯ 1. NEUROBIOLOGY

УЛЬТРАСТРУКТУРНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕМІЄЛІНІЗАЦІЇ СІДНИЧНОГО НЕРВА У ТРАНСГЕННИХ МИШЕЙ ЛІНІЇ C57BL/6

Ірина Говбах¹, Володимир Рубцов², Катерина Сможанік³

¹Харківська медична академія післядипломної освіти, Харків, Україна;

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
Україна;

³Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, Україна
katernasmozhanik@ukr.net

ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF SCIATIC NERVE DEMYELINATION IN C57BL/6 TRANSGENIC MICE

Iryna Govbakh¹, Volodymyr Rubtsov², Ekaterina Smozhanik³

¹Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine;

²Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine;

³Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

Hereditary Charcot–Marie–Tooth (CMT) motor/sensory neuropathy is a known disease in the group of polyneuropathies. We investigated ultrastructural manifestations of peripheral demyelination in C57BL/6 transgenic mice. Ultrastructural modifications in the sciatic nerve of the C57BL transgenic mice were rather similar to the pathomorphological pattern observed in patients suffering from CMT.

Спадкова моторно-сенсорна нейропатія Шарко-Марі-Тута (ШМТ) є найпоширенішим захворюванням із групи полінейропатій, яка характеризується демієлінізацією периферичних нервів. Для дослідження механізмів, задіяних у процесі демієлінізації, використовують різні *in vivo* та *in vitro* моделі. Ми досліджували периферичну демієлінізацію на ультраструктурному рівні у трансгенних мишей лінії C57BL/6 за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа JEM-100CX (Jeol, Японія). Електронно-мікроскопічні дослідження сідничного нерва у трансгенних мишей лінії C57BL/6 виявили дис- та демієлінізацію аксонів, формування структур, характерних для хвороби ШМТ1А, так званих цибулин, а також в окремих випадках спостерігалася гіпертрофія мієлінових оболонок. У сукупності ультраструктурні зміни в сідничному нерві трансгенних мишей лінії C57BL подібні до патоморфологічної картини, яка спостерігається в пацієнтів з ШМТ. Таким чином, трансгенна гетерозиготна лінія мишей C57BL може стати корисною моделлю для розкриття механізмів розвитку захворювання ШМТ та використовуватися для розробки методів лікування цієї хвороби.

**THE AMOUNT OF CALCIUM-BINDING PROTEIN S100B IN
THE BRAIN UNDER METABOLIC DISORDER**

Boubacar Sylla, Galyna Ushakova
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine
boubacarsylla920@gmail.com

ASTROGLIA REACTION AFTER INTRACEREBRAL HEMORRHAGE IN THE RAT

**Yuliia Kovalchuk¹, Ulyana Suvaryan¹, Olena Dovban¹, Volodymyr
Zhilyuk², Galyna Ushakova¹**

¹Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine;

²State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health
of Ukraine", Dnipro, Ukraine

yulka.5868152@ukr.net

Intracerebral hemorrhage (ICH) causes marked perihematomal edema formation and neurological deficits. Spontaneous intracerebral hemorrhage is a common and often fatal stroke subtype. If the patient survives the ictus, the resulting hematoma within brain parenchyma triggers a series of events leading to secondary insults and severe neurological deficits. Astrocyte-specific proteins are used as markers of astrocytes reaction, particularly during brain damage. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) is a histospecific component of the intermediate filaments of the cytoskeleton of astrocytes. Due to its high specificity and early release from the CNS after traumatic brain injury, GFAP can be a very useful marker for early diagnosis.

This research was performed on 18 Wistar rats. Animals were divided into three groups (n = 6): 1 – intact, 2 – control, 3 – experimental intracerebral hemorrhage. All animals had free access to food and water. The experiment was conducted in accordance with the "Regulations on the use of animals in biomedical experiments". The animals were decapitated under anesthesia (thiopental, 60 µg/kg), cerebellum and hippocampus were isolated, which are then used to produce protein fractions. Total protein was measured by Bradford method. The levels of GFAP in obtained fractions were measured with competitive ELISA. Statistical analysis was performed with ANOVA. Reliable data were considered at P <0.05.

It was shown that the total protein content in soluble fractions obtained from different parts of the brain of rats for intracerebral circulation can not be reliably set at 3.55 - 4.07 mg / ml. Significant use of the total protein content in the filamentous fractions in the hippocampus and cerebellum in the control group of animals, compared with intact, and a significant increase in this protein in the cerebellum under conditions of intracerebral circulation. In the study of the soluble form of GFAP in the hippocampus no significant changes were found, and in the cerebellum there was a significant increase in dispartate GFAP in the control group and in the intracerebral circulation, compared with intact animals. In the hippocampus, the content of soluble GFAP is at the level of 10.8 - 11.03 µg / 100 mg of tissue. In the cerebellum in the intact group, the sGFAP content was set at 18.1 ± 0.34 µg / 100 mg of tissue, with intracerebral

circulation - $25.7 \pm 3.49 \mu\text{g} / 100 \text{ mg}$ of tissue. The study of the cytoskeletal form of GFAP in the hippocampus indicates a reliable use of the studied protein in terms of intracerebral circulation. In the intact group of animals, the content of fGFAP is set at $346.01 \pm 13.71 \mu\text{g} / 100 \text{ mg}$ of tissues, under conditions of intracerebral circulation increases to $415.96 \pm 19.83 \mu\text{g} / 100 \text{ mg}$ of tissues. In the cerebellum, only the tendency to the content of fGFAP for the conditions of intracerebral circulation was established, but the data on them was not reliable.

The experimental data obtained indicate the risk of astrogliosis development under intracerebral hemorrhage, which confirmed by an increase in the concentration of GFAP in the different brain areas.

REDISTRIBUTION OF NCAM IN RAT HEART INDUCED BY HYPERGLYCEMIA AND PREVENTED WITH MELATONIN

Yuliia Kovalchuk¹, Svitlana Kyrychenko¹, Volodymyr Zhilyuk², Galyna Ushakova¹

¹Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine;

²State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

yulka.5868152@ukr.net

Diabetes is a worldwide health problem currently affecting over 200 million people worldwide. It causes hyperglycemia and disturbs the effects of insulin in the human body. Hyperglycemia is one of the most common etiological factors that induce internal diseases, including disorders in functioning of the central nervous system (CNS) and innervation of vitally important organs. Neuronal cell adhesion molecules (NCAMs) are the members of the large immunoglobulin sub-family, which mainly participates in formation of intercellular contacts of adhesive type. A high degree of NCAM polysialylation on neuronal processes promotes a variety of developmental events, such as axonal growth and fasciculation, cell migration, initiation of synaptic reorganization, and synaptogenesis. Changes in NCAM levels are known to be the key factor contributing to neuronal plasticity. Chemically, NCAMs are glycoproteins, which provide homophilic communication between cells. NCAMs are abundantly synthesized on the surface of nervous cells, and to the less extent, on the gliocytes of brain and peripheric nervous system (PNS). The smallest amount of NCAMs is detected in skeletal muscles, activated T-lymphocytes, zero or NK-lymphocytes, and cells of neuroendocrinal tissue. NCAM provides not only cell-cell or cell-matrix communication, but also greatly determines rate of cell proliferation, activation of the certain genes, morphology and structure of cells. Thus, the present study was aimed to evaluate

changes in NCAM levels in heart of rats with the experimental II type of diabetes mellitus (DM-II).

Adult males of Wistar rats 230-250 g of weight were used for the experiment. The animals were divided into three groups (n = 7 per group): 1 – control, 2 – rats with the induced DM-II, animals were once injected with the water solution of nicotinamide (Sigma-Aldrich, USA) in a dose of 230 mg/kg b.w. i.p., and then after 15 min rats were injected with streptozotocin (Sigma-Aldrich, USA) dissolved in citrate buffer (pH 4.5) in a dose of 65 mg/kg b.w.; animals, which developed blood glucose concentration 8-14 mmol/L were selected for the experiment, 3 – animals with induced DM-II treated with melatonin in a dose of 10 mg/kg b.w. All experimental procedures were conducted in accordance with ethical standards on the care and use of laboratory animals. After termination of the experiment, fractions of water-soluble (cytosolic) proteins and membrane proteins were isolated from the heart tissue by homogenization and differential ultracentrifugation. Total protein was measured by Bradford method. Quantitative analysis of NCAM was performed by ELISA. Results were measured with the use of ELISA reader Anthos 2010 (Finland) at 492 nm. Statistical analysis of the obtained results was fulfilled by one-way analysis of variances (ANOVA). The P value less than 0.05 was considered statistically significant.

It was shown that experimental DM-II induces significant elevation of total membrane proteins up to $155,3 \pm 4,4$ mg/g in the heart tissue compared to that from control animals ($119,7 \pm 16,2$ mg/g tissue). However, there was only tendency in increasing of membrane form of NCAM in heart of rats with experimental DM-II, but this parameter varied greatly (from 72 to 82 μ g/g tissue) and the difference did not reach the level of statistical significance. Melatonin treatment prevented alterations of total membrane protein and NCAM levels in heart of rats with experimental DM-II. Obtained data suggest that melatonin could display positive effects through alleviating changes in membrane adhesive protein levels in rat hearts disturbed by hyperglycemia.

2. МЕДИЧНА БІОХІМІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ 2. MEDICAL BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY

ВПЛИВ ПІРУВАТУ НА РОЗВИТОК ТА ПРОГРЕСУВАННЯ ПІСЛЯІНСУЛЬТНОЇ ДЕПРЕСІЇ

Анастасія Галінська¹, Олена Севериновська¹, Метью Бойко²
Дніпровський національний університет ім. О. Гончара, Дніпро, Україна¹
Кафедра анестезіології та критичної допомоги, Медичний центр
університету Сорока, Факультет медичних наук, Університет Бен-Гуріона
в Негеві, Беер-Шева, Ізраїль²
biolog.anastasia@gmail.com

THE EFFECT OF PYRUVATE ON THE DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF POST-STROKE DEPRESSION

Anastasiia Halinska¹, Olena Severynovska¹, Matthew Boyko²
O. Honchar National University, Dnipro, Ukraine¹
Department of Anesthesiology and Critical Care, Soroka University Medical Center, Faculty
of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel²

Brain damage from ischemic events remains the leading cause of death and disability worldwide. Glutamate - mediates cortico-cortical and cortico-subcortical relationships in the brain. Decreased glutamate levels increase impaired ability to learn and memory. Reducing glutamate levels can be achieved through a mechanism such as activation of oxidative phosphorylation enzymes (pyruvate).

Обґрунтування та мета Пошкодження головного мозку в результаті ішемічних явищ залишається основною причиною смерті та інвалідизації в усьому світі. Глутамат - опосередковує кортико-кортикальні і кортико-субкортикальні взаємозв'язки в головному мозку. Зниження рівня глутамату посилює порушення здатності до навчання і пам'яті. Зниження рівня глутамату можна досягти за допомогою такого механізму, як активація ферментів окислювального фосфорилування (пірувату)

Методи Експерименти були проведені відповідно до рекомендацій Хельсінської і Токійської Декларацій та настановчих принципів Європейського співтовариства щодо використання експериментальних тварин. Експерименти були затверджені Комітетом по догляду за тваринами університету Бен-Гуріона в Негеві, Ізраїль. Всього було використано 140 щурів-самців Sprague-Dawley (Harlan Laboratories, Ізраїль) вагою 300 до 400 грамів. Вісімдесят щурів були випадковим чином розподілені в одну з трьох груп: I група - оклюзія середньої мозкової артерії (МСаО) плюс лікування піруватом (n = 30 щурів), II група - МСаО плюс лікування плацебо (n = 30) та III група - прооперовані щури без

МСаО (n = 20). Остаточна кількість тварин у кожній групі склала: 23, 20 та 20 тварин відповідно. Процедура оклюзії середньої мозкової артерії (МСаО) проводилась на щурах, яких знеболювали сумішшю ізофлурану. Сама операція проводилась хірургічним способом: після ретельного відокремлення у та оголення загальної та внутрішньої сонної артерії та після відділення цих артерій від внутрішньої сонної артерії і блукаючого нерва, останній був заблокований. Після завершення моделювання тварини упродовж 30 діб споживали піруват (Sigma Israel Chemicals, Ізраїль) який зберігався при температурі 2-4 ° С до використання та додавався у воду для пиття (180 мг/кг/добу в три прийоми). Свіжий розчин готували кожні 8 годин. Подібні кількості питної води без пірувату отримували групи плацебо. Після закінчення курсу лікування тварин виводили з експерименту і проводили біохімічні дослідження цільної крові. Визначали концентрацію глутамату, яку вимірювали за допомогою флуорометричного методу Грема і Априсона. Визначення аланіну та а-кетоглутарату проводили згідно інструкціям виробника (Sigma) за флуорометричним методом. Статистичний аналіз проводили з використанням пакету програм SPSS 22 (SPSS Inc., Чикаго, Іллінойс, США).

Результати Після звичайної операції без МСаО через 24 години встановлена концентрація глутамату в спинномозковій рідині на рівні $2,3 \pm 1$ мМ/л. У прооперованих щурів за процедурою МСаО зафіксовано збільшення концентрації цієї речовини: у тварин із групи плацебо - до $23 \pm 4,4$ мМ/л, у тварин, що вживали піруват - до $11,1 \pm 2,0$ мМ/л ($p < 0,01$). До того ж, концентрація глутамату в лікворі була вірогідно нижчою у щурів, які отримували піруват після інсульту, порівняно із щурами, які отримували плацебо після інсульту. Зафіксована концентрація глутамату в крові через тиждень після операції: у тварин I групи - $74,7 \pm 22,5$ % ($p < 0,01$), II групи - $98,1 \pm 20,6$ % ($p < 0,01$), III - $101 \pm 16,1$ %.

У щурів, які отримували піруват протягом одного місяця, концентрація аланіну та а-кетоглутарату в сироватці крові збільшувалась на 3 та 13 % ($p < 0,05$) відносно вихідних рівнів.

Висновки Продемонстровано значне підвищення рівня глутамату в ішемізованій тканині мозку. Пікові рівні глутамату реєстрували через 24 год після індукції ішемією МСаО. Поступово рівень глутамату знижуватися і повертався до вихідного рівня через тиждень після індукції ішемії. Об'єм впливу глутамату на мозок упродовж першого тижня після інсульту був вищим, ніж у перфузійному мозку.

Зафіксовано, що піруват призводить до 50% зниження рівня глутамату вже через 24 години після індукції ішемії. Доказана чітка ефективність пірувату як поглинача глутамату крові.

ВПЛИВ ДЕФІЦИТУ МОНОКСИДУ АЗОТУ НА СТАН ВАГУСНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ШЛУНКОВОЇ СЕКРЕЦІЇ ЩУРІВ

Анастасія Галінська^{1,2}, Олексій Галінський², Олена Севериновська¹
Дніпровський національний університет ім. О. Гончара, Дніпро, Україна¹
ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», Дніпро, Україна²
E-mail: biolog.anastasia@gmail.com

EFFECT OF NITROGEN MONOXIDE DEFICIENCY ON THE STATE OF VAGUS REGULATION OF RAT'S GASTRIC SECRETION

Anastasiia Halinska^{1,2}, Oleksii Halinskyi², Olena Severynovska¹
O. Honchar National University, Dnipro, Ukraine¹
State institution Institute of Gastroenterology of NAMS of Ukraine, Dnipro, Ukraine²

NO is considered as the main inhibitory mediator of the enteric nervous system of the stomach and gastrointestinal tract. NO is involved in vagus-mediated accommodation food reflex of the stomach and colon, and in the coordinated regulation of contractile function in peristaltic reflexes. There is a method of assessing vagal effects by performing insulin tests. Insulin hypoglycemia causes irritation of the vagus nerve nuclei, which allows us to study their effect on gastric secretion.

Обтрунтування та мета NO розглядається як головний гальмівний медіатор ентеральної нервової системи шлунка і шлунково-кишкового тракту. NO бере участь як у вагусно-опосередкованому акомодативному харчовому рефлексі шлунка і товстої кишки, так і в координованій регуляції скорочувальної функції при перистальтичних рефлексів (Luchkova, 2013). Відомий спосіб оцінки вагусних впливів шляхом проведення інсулінових тестів. Інсулінова гіпоглікемія викликає подразнення ядер блукаючого нерву, що дозволяє вивчити його вплив на шлункову секрецію (Chernyad'ev, 2019).

Методи Дослідження проводили на 59 білих лабораторних щурах-самцях лінії Wistar, масою 200–230 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Експерименти проводились з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи (1997 р.) та з дотриманням вимог "Загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах", (2001 рік). В якості блокатору синтезу монооксиду азоту використовували 1% суспензію N^ω-нітро-L-аргініну (Sigma-Aldrich) у дозі 40 мг/кг. Після 18-ти годинної харчової депривації з вільним доступом до води, щурів наркотизували розчином кетаміну гідрохлориду (110 мг/кг), а після проводили забір шлункового соку. При біохімічному дослідженні в шлунковому соці визначали концентрацію пепсину та гастропротейнів фотометричним методом та проводили вимірювання рН за допомогою рН-метра. Для оцінки впливу парасимпатичного відділу вегетативної нервової

системи на періодичну діяльність гастродуоденальної зони використовували модифіковану методику проведення інсулінової проби, згідно з якою тваринам вводили підшкірно інсулін в дозі 5 МО/кг. Для статистичного аналізу отриманого числового матеріалу використовували описативну статистику. Відмінності, отримані за методом парних порівнянь, вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати Після введення інсуліну тваринам контрольної групи протягом години було зібрано $2,30 \pm 0,22$ мл секрету, що в 2 рази ($p < 0,01$) більше у порівнянні з інтактними показниками ($1,12 \pm 0,10$ мл). Виявлено зростання кислотності шлунково соку за показником рН на 14% ($p < 0,05$). Збільшення концентрації пепсину до рівня $1,12 \pm 0,06$ мг/мл, що в 1,7 рази ($p < 0,01$) вище у порівнянні зі значеннями інтактних щурів ($0,66 \pm 0,03$ мг/мл). Змін у концентрації глікопротеїнів шлункового соку не встановлено. Тобто виявлено, що опосередкована інсуліном стимуляція центральних ядер блукаючого нерва сприяла стимуляції секреторної активності головних та парієтальних клітин слизової оболонки шлунку не викликаючи змін в секреторній активності поверхнево-епітеліальних клітин, що взагалі можна вважати позитивною відповіддю СОШ на вагусну стимуляцію.

Проведення інсулінового тесту на фоні одноразового введення L-NNA викликало зменшення об'єму часової порції соку на 43% ($p < 0,01$) у порівнянні з фоновими показниками ($1,33 \pm 0,25$ мл). Рівень рН зростав на 59% ($p < 0,05$) у порівнянні з фоновими значеннями ($2,12 \pm 0,16$). Концентрація пепсину у шлунковому соці продовжувала бути зниженою ($0,32 \pm 0,05$ мг/мл) як і у фоні ($0,46 \pm 0,08$ мг/мл), що на 30% ($p < 0,05$) менше у порівнянні зі значеннями інтактних тварин. Встановлено зменшення концентрації глікопротеїнів шлункового соку ($0,009 \pm 0,002$ мг/мл) на 84% ($p < 0,01$) у порівнянні з фоновими значеннями. Отже на фоні введення неселективного блокатору синтезу оксиду азоту відбувалось гальмування секреторної активності головних, парієтальних та поверхнево-епітеліальних клітин слизової оболонки шлунку У відповідь на інсуліно-індуковану вагусну стимуляцію, за вищесказаних умов дефіциту оксиду азоту, проходить реверсування функціональної відповіді парієтальних (за зростанням рН) та головних (за зменшенням концентрації пепсину) клітин слизової оболонки шлунку. Враховуючи те, що відмічається і зниження концентрації глікопротеїнів в шлунковому соці, можна припустити що дефіцит оксиду азоту порушує місцеву вагусну регуляцію.

Висновки Встановлено що дефіцит монооксиду азоту, викликаний одноразовим введенням неселективного блокатору синтази оксиду азоту (L-NNA) викликає зниження концентрацій пепсину глікопротеїнів та водневих іонів в шлунковому соці. В інтактних умовах інсуліногенна стимуляція центральних ядер блукаючого нерву носить прогнозований

стимулюючий вплив, тоді як за умов гострого дефіциту оксиду азоту відбувається реверсивна відповідь, що свідчить про пряму участь монооксиду азоту в передачі еферентної вагусної імпульсації.

РОЛЬ ТИРОЇДНИХ ГОРМОНІВ В ФОРМУВАННІ ПРОСТОРОВОЇ ПАМ'ЯТІ ПРИ ГОСТРОМУ І ХРОНІЧНОМУ СТРЕСІ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Олена Демченко, Олександр Родинський, Людмила Скубицька
ДЗ « Дніпропетровська медична академія», Дніпро, Україна
elena.m.demchenko@gmail.com

THE ROLE OF THYROID HORMONES IN THE FORMATION OF SPATIAL MEMORY IN ACUTE AND CHRONIC STRESS IN RATS OF DIFFERENT AGES

Olena Demchenko, Alexandr Rodinsky, Ludmila Scubitskaya
Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipro, Ukraine

The anti-stress effect of thyroid hormones, which is determined by the improvement of spatial memory, is present only at the juvenile age.

Відносно тироїдних гормонів, на сьогодні, відомі два важливих моменти зростання захворюваності з одного боку і антистресовий ефект, з іншого. Роль тироїдних гормонів у формуванні просторової пам'яті у білих щурів на тлі гострого та хронічного стреса вивчалися нами в віковому аспекті. Моделлю гострого і хронічного стреса було перебування тварин 3-х вікових груп (ювенільних (4 - 5 тижнів), молодих (5 - 6 місяців) і старих (1,8 - 2 роки)) в воді 20° протягом 5 хвилин одноразово, або щодня в тривалості 5 днів. Модель гіпер - гіпотиреозу створювалася шляхом введення з їжею L-тироксину (Німеччина), або Мерказоліла (Україна) протягом 2-х тижнів.

Дослідження просторової пам'яті у водному лабіринті Морріса у ювенільних щурів виявило відсутність змін латентного періоду знаходження рятувальної підставки на тлі гіпертиреозу і істотне зниження даного показника на 40% при гострому і на 25% при хронічному стресі. У молодих щурів час знаходження підставки підвищився на 127% і 58% відповідно гіпер – і гіпотиреозу на фоні гострого стреса, а також на 34% і 17% при гіпер – і гіпотиреозу відповідно на фоні хронічного стреса. У старих щурів погіршення просторової пам'яті відмічалось лише при гіпертиреозі на фоні хронічного стреса. Можливо, такі зміни у формуванні просторової пам'яті на фоні стреса пов'язані з активністю окремих нейромедіаторних систем мозку. Зокрема, покращення вироблення

набутого захисного рефлекса у ювенільних щурів, вочевидь, забезпечується підвищенням вмістом ГАМК (на 40%) в неокортексі і глутамату в гіпокампі (на 33%). Погіршення просторової пам'яті у молодих та старих щурів супроводжувалось надмірним збільшенням глутамату в корі (до 65%) і гіпокампі (до 110%).

Отже, антистресорний ефект тироїдних гормонів, який можливо забезпечується підвищенням вмістом ГАМК та глутаматом, суттєво виражений у ювенільних тварин. В меншому ступені дана дія тироїдних гормонів виявляється у старих щурів і відсутня в молодому віці.

EFFECT OF STRESSORS ON THE FIBRINOLYTIC SYSTEM OF RAT BLOOD

Lina Diachenko, Lylyia Stepchenko

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

linadyach@ukr.net

Long-term effects, even weak stress factors, can be summed up, resulting in emotional tension and pathological conditions in the living organism. With long-term stress, there is an exhaustion of the functional reserves of the organism, which causes the violations of many functional systems, including hemostatic systems. Hemostasis provides blood circulation in the liquid state of blood vessels, which contain central bleeding in vascular damage. These functions use three links of hemostasis: the blood coagulation system, fibrinolytic and anticoagulant systems.

Restriction of fibrin clot growth occurs by means of fibrinolysis system. The fibrinolytic system is multicomponent and consists of activators, inhibitors and the final enzyme – plasmin, which is formed from plasminogen. Plasminogen activation takes place externally and internally. External is provided by tissue plasminogen activator, internal - urokinase, streptokinase. The process of physiological activation of plasminogen occurs only in the presence of a fibrin clot, which is joined by plasminogen and its activators. Plasmin is capable of proteolytic degradation of both fibrin and fibrinogen. As a result of fibrin degradation, D-dimers are formed, fibrinogen - fragments X, Y, D, E. Limiting the process of fibrinolysis is due to its inhibitors (plasminogen activator type I, thrombin-activated fibrinolysis inhibitor, alpha2-antiplasmin, alpha2-macroglobulin and alpha1-antitrypsin).

The aim of our study was to investigate the effect of water-immobilization combined stress on the components of the fibrinolysis system.

The experiment was carried out on white, sexually-mature, young male rats. Which were divided into 3 groups of 8 animals in each. Group 1 (control) -

intact animals. Rats 2 and 3 groups simulated combined stress. Animals of the 2 groups were deduced from the experiment the day after the simulation of combined stress. For animals of the 3 experimental group, water was administered orally with a special dosage unit, individually for 18 days, after which the animals were withdrawn from the experiment. In rat citrate plasma: plasminogen was determined using a test kit "Chromium-Tech Plasminogen" (Technology-Standard, Russia), to determine the activity of trypsin-like enzymes (TPE) used a modification of the method Veremeenko. Statistical data processing was performed using the Microsoft Excel analysis package program.

After modeling water-immobilization combined stress in the plasma of animals of group 2 there was an increase in trypsin-like activity by 1.6 times ($p < 0.05$) relative to intact animals, while the level of plasminogen decreased by 60% ($p < 0.05$). At day 18 after modeling of water-immobilization combined stress in plasma of rats of group 3, the level of plasminogen did not differ from control values, while trypsin-like activity was lower by 36% ($p < 0.05$) relative to group 2 and did not differ from values in intact animals.

Our previous work has established a negative effect of water-immobilization combined stress on the coagulation link of hemostasis. Plasminogen is a precursor of plasmin, which is a major component of the fibrinolytic system. Therefore, the obtained data show the vulnerability of this stage to the effects of water-immobilization combined stress. The increase in trypsin-like activity may be due to the accumulation of fibrinolysis inhibitors (alpha2-macroglobulin and alpha1-antitrypsin).

ПОКАЗНИКИ МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СЕРЦЯ З ПРОМІЖНОЮ ФРАКЦІЄЮ ВИКИДУ ЛІВОГО ШЛУНОЧКА ПРИ ІНФАРКТІ МІОКАРДА З РІЗНИМИ СУПУТНИМИ ПАТОЛОГІЯМИ У ЧОЛОВІКІВ ПОХИЛОГО ВІКУ

Поліна Крамаренко, Олена Хоменко

Дніпропетровське територіальне відділення МАН України,
Дніпро, Україна

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
Дніпро, Україна

khomenkoelen@gmail.com

**INDICATORS OF THE MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF THE HEART WITH
AN INTERMEDIATE EJECTION FRACTION OF THE LEFT VENTRICLE IN
MYOCARDIAL INFARCTION WITH VARIOUS CONCOMITANT
PATHOLOGIES IN ELDERLY MEN**

Polina Kramarenko, Olena Khomenko

Dnipropetrovsk territorial branch of the Small Academy of Sciences of Ukraine, Dnipro,
Ukraine

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

The features of morphological changes in the heart of patients with myocardial infarction in combination with various pathologies were studied.

Інфаркт міокарда (ІМ) є однією з основних причин передчасної смертності та інвалідності населення, що підтверджено даними світової статистики. Актуальною залишається проблема зниження чисельності осіб із даною патологією, однак, лікування ІМ є довготривалим і не завжди результативним у зв'язку з неоднорідністю популяції пацієнтів із ІМ, що загострює необхідність диференційного принципу медичної допомоги. Дискусійним є питання прогностичних предикторів тривалості життя після ІМ, недостатньо вивченими залишаються зміни серцевої діяльності при коморбідних станах.

Мета дослідження: провести аналіз морфо-функціональних показників серця з проміжною фракцією викиду лівого шлуночка при ІМ різної коморбідності у чоловіків похилого віку.

Дослідження проводили з в КЗ «Дніпровський обласний клінічний центр кардіології та кардіохірургії» у м. Дніпро. Обстежено 23 чоловіка похилого віку з ІМ у гострій фазі з проміжною фракцією викиду лівого шлуночка з різними супутніми патологіями. До I групи увійшли 6 осіб, у яких ІМ супроводжувався легеневою недостатністю; II групу склали 6 обстежених з хронічним бронхітом; III групу – 6 чоловіків, інфарктний стан яких поєднувався із цукровим діабетом II типу; IV групу – 5 досліджуваних із атеросклерозом. Усі чоловіки були проінформовані щодо використання даних дослідження у науковій роботі і дали на це письмову згоду. Визначали індекс маси тіла, індекс коморбідності; морфо-функціональні показники відділів серця та його клапанного апарату досліджували ехокардіографічним методом. Статистичну обробку проведено за допомогою прикладної програми Statistica 6,0 for Windows.

Встановлено, що індекс маси тіла знаходився у межах норми у третини чоловіків. Ожиріння I ступеня було виявлено у 22% осіб, II ступеня – у 33%, а решта (9%) мали III ступінь ожиріння. Індекс маси тіла знаходився у межах норми у половини чоловіків I та IV груп та у 34% – II-ої. Серед осіб із цукровим діабетом не було жодної без ожиріння, хоча III-ьої стадії надлишкової ваги у цій групі також не виявлено. Індекс

коморбідності в усіх обстежених перевищував відмітку 5, що свідчить про невтішний прогноз тривалості життя даних пацієнтів після перенесеного інфаркту – менше, ніж 10 років. У чоловіків I групи виявлено збільшення кінцевого діастолічного розміру правого шлуночка – на 16% відносно осіб IV групи.

Інфаркт міокарда з проміжною фракцією викиду лівого шлуночка, поєднаний із цукровим діабетом II типу, у чоловіків похилого віку супроводжувався підвищенням індексу розміру лівого передсердя, кінцевого діастолічного розміру та індексу кінцевого діастолічного об'єму лівого шлуночка порівняно з показниками при ІМ, поєднаним із легеневою недостатністю.

Площа лівого передсердя чоловіків похилого віку з ІМ, поєднаним із легеневою недостатністю, з проміжною фракцією викиду лівого шлуночка, на 6 % зменшена відносно осіб відповідного віку та статі, у яких дану патологію супроводжує хронічний бронхіт.

Порожнини серця у 75% досліджуваних мали нормальні розміри, а решті була притаманна дилатація його лівих відділів (при поєднанні ІМ та атеросклерозу - половині осіб групи); 52% пацієнтів мали знижену скорочувальну функцію лівого шлуночка; 22% – його гіпертрофію. Найбільші зміни лівого шлуночка спостерігались у чоловіків з ІМ, поєднаним із діабетом II типу.

У чоловіків похилого віку при ІМ з проміжною фракцією викиду лівого шлуночка, незалежно від супутньої патології, наявні зміни клапанного апарату серця: фіброз мітрального клапану у 100% осіб; у 43% його кальциноз; у 50% – зміни трикуспідального клапану; в усіх – недостатність стулок міжпередсердно-шлуночкових клапанів, що є причиною зворотного току крові у 45% чоловіків з даною патологією.

Подальше вивчення особливостей морфо-функціонального стану серця з проміжною фракцією викиду лівого шлуночка при інфаркті міокарда різної коморбідності у осіб різних вікових груп надасть змогу застосування диференційованого підходу для підвищення ефективності медичної допомоги.

ВПЛИВ ЕСТРОГЕНУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ НА РІВЕНЬ ГЛУТАМАТУ КРОВІ

Марина Кучерява¹, Олена Севериновська¹, Метью Бойко²

Дніпровський національний університет ім.О.Гончара, Дніпро, Україна¹

Кафедра анестезіології та критичної допомоги, Медичний центр університету Сорока, Факультет медичних наук, Університет Бен-Гуріона

в Негеві, Беер-Шева, Ізраїль²

kucheryavaya98776@gmail.com

THE EFFECTS OF ESTROGEN AND PROGESTERONE ON BLOOD GLUTAMATE LEVELS

Maryna Kucheriava¹, Olena Severynovska¹, Matthew Boyko²

Oles Honchar National University, Dnipro, Ukraine¹

Department of Anesthesiology and Critical Care, Soroka University Medical Center, Faculty of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel²

The gonadal steroid hormones estrogen and progesterone are known as neuroprotective properties. It prevents the development of various neurodegenerative conditions. At the same time, high concentrations of glutamate in brain fluids have a neurotoxic effect. Estrogen and progesterone are thought to exert their neuroprotective properties through glutamate-related mechanisms. The aim is to investigate the effect of estrogen and progesterone on blood glutamate levels during the menstrual cycle.

Обґрунтування та мета. Жіночі статеві гормони естроген та прогестерон відомі як речовини із нейропротекторними властивостями. Вони попереджують розвиток різноманітних нейродегенеративних станів. При цьому високі концентрації глутамату у мозкових рідинах чинять нейротоксичний ефект. Припускається, що естроген та прогестерон чинять реалізують свої нейропротекторні властивості через глутамат-залучені механізми. Мета роботи – дослідити вплив естрогену та прогестерону на рівень глутамату крові упродовж менструального циклу.

Методи. Дослідження затверджені біотичною Інституційною комісією з обстеження Медичного центру університету Сорока в Медичному центрі університету Сорока, Беер-Шева, Ізраїль. Кожний учасник надав письмову згоду. У дослідженні взяли участь практично здорових 31 чоловік і 45 жінок. Кожна жінка мала регулярний менструальний цикл 26-32 дні. До дослідження не допускали жінок, які приймають оральні контрацептиви або мають нерегулярний менструальний цикл. У чоловіків брали одну пробу крові, а у жінок – чотири проби: на першій, сьомий, за два дні до та через 9 днів після овуляції. У зразках крові визначали концентрацію глутамату, естрогену, прогестерону, глюкози, GOT та GPT.

Для визначення глутамату кров депротейнізували доданням рівнозначної частки замороженої 1М хлорної кислоти та центрифугували на 10000×g 10 хвилин при 4°C. Далі збирали супернатант, коригували його до рН 7,2 за допомогою 2М H₂CO₃ і зберігали при 80°C для подальших аналізів. Концентрацію глутамату визначали флористичним методом Грехема та Апрісона.

Задля визначення естрогену та прогестерону кров центрифугували, зберігали сироватку в морозильній камері при -80°C. Вимірювання проводили в ендокринологічній лабораторії Медичного центру Сорока, використовуючи пробу на естроген/прогестерон ADVIA Centaur (Байер).

Рівні вимірюваних речовин порівнювали між групою чоловіків та жінок на початку менструації за допомогою t-тесту на рівність значень. Порівняння між жінками на різних стадіях циклу – повторним заміром ANOVA.

Результати. Під час дослідження не виявлено значної різниці між групами чоловіків та жінок на початку менструації у рівні концентрації глюкози та між жінками протягом циклу. Концентрації GOT та GPT не змінюється протягом циклу, проте вони були значно вищими в чоловіків, ніж у жінок.

Рівень глутамату у крові вищий у чоловіків, ніж у жінок на початку менструації. Протягом циклу відмічено різницю у рівні глутамату. Спостерігається зниження рівня глутамату у другій пробі, порівняно з першою, третій – з першою та другою. У четвертій пробі рівень глутамату вищий, ніж у третій, однак нижчий за першу і другу. Рівень естрогену в крові жінок підвищений у другій, третій та четвертій пробі, порівняно з першою. Прогестерон значно збільшений у третій пробі, його пік – у четвертій пробі.

Висновки. Рівень глутамату крові корелює з рівнем естрогену і прогестерону у плазмі крові: зареєстровано чітку залежність підвищення рівня гормонів та зниження рівня глутамату.

МОРФОЛОГІЧНІ ФОРМИ ХРОНІЧНОГО ГАСТРИТУ ПРИ СУПУТНЬОМУ УРАЖЕННІ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

¹ Людмила Скубицька, ²Олена Севериновська, ¹ Олександр Родинський

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія», м. Дніпро, Україна

²Дніпровський національний університет ім. Олеся Гончара, м. Дніпро, Україна E-mail: luda.scubitskaya@gmail.com

MORPHOLOGICAL FORMS OF CHRONIC GASTRITIS WITH CONCOMITANT DEFEAT OF THE PANCREAS

¹ Ludmyla Skubitskaya, ² Olena Severynovska, ¹ Olexandr Rodinsky

¹"Dnepropetrovsk Medical Academy", Dnipro, Ukraine

²Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Established atrophic and atrophic-hyperplastic forms of gastritis in patients with contaminant defeat of the pancreas.

Обґрунтування. Хронічний гастрит - поширена хвороба шлунка. Певні морфологічні форми хронічного гастриту тісно пов'язані з онкологічними хворобами. Верифікація діагнозу можлива лише на підставі дослідження біоптатів шлунку, що дозволяє пов'язувати зміни структур з

станом їх функцій. Остаточо невирішеним питанням є вплив уражень підшлункової залози на морфо-функціональний стан слизової шлунку.

Мета: За морфологічними критеріями вивчити різновиди хронічного гастриту асоційованого з хронічним панкреатитом.

Матеріали і методи. В роботі проаналізована медична документація 60 хворих на гастрит та панкреатит, що проходили лікування в лікарні І.І. Мечникова. Критеріями включення були чоловіки віком від 20 до 50 років, відсутність *Helicobacter pilory*, професійних та супутніх хвороб: цукровий діабет, щитовидної залози, серцево-судинних захворювань та операцій. Вивченні результати гістологічного дослідження слизової оболонки антрального відділу шлунка у 30 хворих на хронічний гастрит та у 30 хворих на хронічний гастрит асоційований з хронічним панкреатитом.

Результати. У 5 (16,7%) хворих на хронічний гастрит не виявлено патологічних змін в слизовій оболонці шлунка. У решти 25 хворих встановлені: поверхневий гастрит у 14 (60%) хворих, серед яких 9 (30%) з помірною активністю і 5 (16,7%) з вираженою активністю; хронічний помірний атрофічний гастрит у 7 (23,3%) хворих та в 4 (13,3%) – атрофічно-гіперпластичний гастрит. Серед 30 хворих на хронічний гастрит з супутнім панкреатитом найбільше склали 11 (36,6%) хворих на атрофічний гастрит із слабо вираженою запальною реакцією та 14 (46,6%) хворих на атрофічно-гіперпластичний гастрит з слабо вираженою та вираженою реакцією. У 2 (6,6%) хворих встановлений хронічний гастрит, а 3 (10%) хворих мали хронічний помірний гіперпластичний гастрит.

Висновок. Таким чином, встановлено збільшення частоти виявлення атрофічного і атрофічно-гіперпластичного гастритів у пацієнтів з супутньою патологією підшлункової залози.

ОСОБЛИВОСТІ АЛЬФА- ТА БЕТА АКТИВНОСТІ ЕЕГ ПРИ ЗАПАМ'ЯТОВУВАННІ АНГЛІЙСЬКИХ СЛІВ ЗА ДОПОМОГОЮ МНЕМОТЕХНІКИ

Яна Усенко, Ірина Кофан, Олена Севериновська

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро,
Україна

baira49107@gmail.com

FEATURES OF ALPHA AND BETA ACTIVITY OF EEG AT MEMORIZATION OF ENGLISH WORDS BY MEANS OF MNEMONICS

Yana Usenko, Iryna Kofan, Olena Severynovska
Oles Honchar National University, Dnipro, Ukraine

Nowadays a person must learn a lot of information, process it, be able to mix it with his knowledge and use in any moment to reach success. Acquisition with mnemonics methods makes this possible because they are based on creating different associations. It is considered that associative memory mechanisms are basic at realization person's knowledge processes. However, mnemonics method found its place at educational system a long time ago, but neuropsychological mechanisms that are fundamental to brain work processes are not studied. That is why the aim of this article is to discover high frequency EEG features while using mnemonics techniques while studying English words.

Методи. Дослідження проводились на студентках-добровольцях віком від 18 до 20 років в кабінеті функціональної діагностики Дніпропетровської клінічної лікарні на залізничному транспорті. У процесі розумової діяльності здійснювали реєстрацію з 16 стандартних відведень і первинний аналіз ЕЕГ-активності за допомогою апаратно-програмного комплексу DXNT32.V19, (виробник «DX-Complex», LTD, м. Харків, Україна): у стані спокою із закритими і відкритими очима (по 2 хвилини) та під час пригадування щойно запам'ятованих слів звичним способом і за допомогою мнемотехніки (по 2 хвилини). Далі визначали синхронність роботи ділянок мозку за допомогою кореляційного аналізу. Для кожного виду когерентного зв'язку у кожному частотному діапазоні розраховували його середні значення. Когерентний зв'язок із значенням 0,6-0,69 вважали зв'язком середнього ступеня, із значенням 0,7 та більше – зв'язком високого ступеня. Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 6.0. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним $p=0,05$.

Результати. При звичному запам'ятовуванні іноземних слів, у порівнянні з фоновим станом (відкриті) очі, у діапазоні альфа-частот відбувається зниження спектральної потужності у медіальних і передньоскроневих ділянках обох півкуль та у T5, O1 відведеннях лівої півкулі. Зниження спектральної потужності у бета1-діапазоні - у лобних зонах та у точці T4 ($p \leq 0,05$). Асоціативне запам'ятовування слів у порівнянні зі звичним способом призвело до зниження спектральної потужності хвиль діапазону альфа-частот в основному у лівій півкулі. Зниження спостерігалось у префронтальних ділянках обох гемісфер, у лобній (F3) та темпоральних зонах лівої півкулі (F7, T3, T5). Найбільш значне зниження зафіксоване у задньоскроневому локусі лівої гемісфери (T5) ($p \leq 0,01$). У діапазоні бета1-частот відмінностей у змінах спектральної потужності між асоціативним та звичним способами запам'ятовування слів не спостерігалось. Зниження спектральної потужності діапазону бета2-частот при створенні асоціацій відбулось у задньоскроневому локусі правої півкулі (T6) ($p \leq 0,05$).

При запам'ятовуванні слів звичним способом, порівняно з фоновим записом (відкриті очі), у альфа-діапазоні відмічений тільки один внутрішньопівкульний довгий зв'язок у лівій півкулі F3-T5 ($p \leq 0,05$). При

асоціативному запам'ятовуванні іноземних слів спостерігали F4-T6 зв'язок у протилежній півкулі. Крім цього, утворювалась коротка міжпівкульна синхронізація між точками O1-O2, що свідчить про обробку образів у зорових ділянках обох гемісфер та залучення до процесу запам'ятовування локусів правої півкулі. До того ж з'являлись міжпівкульні довгі F7-F8, C3-O2 і короткі C3-C4 зв'язки. При запам'ятовуванні слів звичним способом у бета1-діапазоні синхронність хвиль відсутня, а при асоціативному – з'являлись велика кількість зв'язків, більшість з яких є міжпівкульними діагональними, що свідчить про активний стан обох гемісфер. У бета2-діапазоні при традиційному запам'ятовуванні вірогідний міжпівкульний діагональний (F4-P3) зв'язок та внутрішньопівкульний довгий (F8-T6) у правій півкулі. Крім того, спостерігався міжпівкульний короткий зв'язок між симетричними локусами O1-O2. При асоціативному мисленні спостерігали появу міжпівкульних діагональних зв'язків (Fp1-F8; T4-T5) та внутрішньопівкульного короткого (C3-T5) у задньому відділі лівої півкулі. Крім цього, з'являвся внутрішньопівкульний довгий зв'язок у лівій півкулі між Fp1 та O1 зонами. Згідно з отриманими даними, синхронізація у бета2-діапазоні, охоплюючи обидві гемісфери головного мозку, більш виражається у лівій півкулі, яка на думку багатьох авторів вважається відповідальною за процеси логічного мислення. Роль складових бета-діапазону незначна. Тільки в зоні T6 відмічали вірогідне ($p \leq 0,05$) зменшення спектральної потужності хвиль бета2-діапазону.

Дані когерентного аналізу дозволяють припускати, що при мнемонічному запам'ятовуванні більш висока когерентність у системі міжпівкульних і симетричних внутрішньопівкульних зв'язків центральних, тім'яних та лобних областей може бути обумовлена більш вираженими активуючими впливами на кору з боку неспецифічної таламічної системи. У свою чергу висока когерентність полегшує інформаційну взаємодію між тім'яними і моторними центральними, а також тім'яними і лобними ділянками мозку, сприяючи більш швидкому прийняттю рішення і вибору рухової програми. Також при абстрактному запам'ятовуванні нових слів синхронізація на альфа-частоті відмічається між півкулями, що вказує на залучення обох гемісфер у процес збереження інформації, отриманої завдяки створенню асоціацій. Зростання синхронізації електричної активності у діапазоні бета-ритму зіставляють з процесами обробки інформації при розпізнаванні образів. Синхронізація у бета2-діапазоні, охоплюючи обидві гемісфери головного мозку, більш виражається у лівій півкулі, яка на думку багатьох авторів вважається відповідальною за процеси логічного мислення.

Висновки. Згідно з отриманими даними, можна зробити висновок, що процес запам'ятовування асоціативних образів реалізується через зниження спектральної потужності хвиль в альфа-діапазоні у фронтальних

та темпоральних локусах лівої півкулі та префронтальних ділянках обох гемісфер, що вказує на активацію розумової діяльності саме в цих зонах у процесах збереження та відтворення асоціативної інформації.

ВПЛИВ РАНЬОГО ЖИТТЄВОГО СТРЕСУ НА ДЕПРЕСИВНУ, ТРИВОЖНУ ТА СОЦІАЛЬНУ ПОВЕДІНКУ ЩУРІВ

Дарина Якименко¹, Олена Севериновська¹, Метью Бойко²
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро,
Україна¹

Медичний центр університету Сорока, Факультет медичних наук,
Університет Бен-Гуріона в Негеві, Беер-Шева, Ізраїль²
darinka1203@gmail.com

THE INFLUENCE OF EARLY LIFE STRESS ON DEPRESSIVE, ANXIOUS AND SOCIAL BEHAVIOR OF RATS

Daryna Yakymenko¹, Olena Severynovska¹, Matthew Boyko²
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine¹
Soroka University Medical Center, Faculty of Health Sciences, Ben-Gurion University of the
Negev, Beer-Sheva, Israel²

The study of the influence of early life stress on depressive and anxiety behavior is important for understanding the mechanisms of occurrence and development of many mental illnesses and mood disorders.

Обґрунтування та мета: дослідження впливу раннього життєвого стресу на депресивну та тривожну поведінку є важливим для розуміння механізмів виникнення і розвитку багатьох психічних хвороб та розладів настрою. Метою роботи є в модельних експериментах оцінити особливості індивідуальної та соціальної поведінки щурів, які в дитинстві пройшли через відокремлення від матерів, через що мали ранній життєвий стрес, порівняно з контрольною групою.

Методи: відокремлення (сепарація, депривація) від матерів: модель раннього життєвого стресу (РЖС) гризунів (щоденне фізичне відокремлення дитинчат від матерів на 6 год перші 3 тижні життя, а після – початок самостійного життя. Після третього тижня в дослідженні брали участь лише 58 щурят самців, 28 з яких пройшли відокремлення від матері, і 30 щурят контрольної групи). Поведінкові тести щури проходили по досягненню тримісячного віку.

Поведінкові тести: тест на надання переваги сахарозі (the sucrose preference test); шок-проба, заховання зонду (shock-probe defensive burying test); конфліктний тест Фогеля (Vogel conflict test); стандартний тест на соціальний стрес (the resident-intruder paradigm: a standardized test for aggression, violence and social stress); тест на домінують-покірну поведінку (dominant-submissive behavior).

Статистичну оцінку результатів проводили за допомогою пакету SPSS 22 (SPSS Inc., Chicago, IL). Значення порівнянь між групами визначали за допомогою U-тесту Манна-Уїтні (для непараметричних даних) або T-тесту (для параметричних даних). Нормально розподілені дані і безперервні змінні були представлені як середнє \pm SEM. Результати вважали статистично значущими при $p < 0,05$, і високо значущими при $p < 0,01$.

Результати:

1. Оцінка депресивності поведінки (на основі *тесту на надання переваги сахарозі*): результати тесту не показали статистично значущих відмінностей у моделі поведінки гризунів з раннім життєвим стресом в порівнянні з щурами контрольної групи.

2. Оцінка тривожної поведінки (на основі *шок-проби, заховання зонду та конфліктного тесту Фогеля*): виявили взаємозв'язок між досвідом ранньої розлуки з матір'ю та тривожністю, оціненими на моделях, заснованих на умовних реакціях. Дорослі щури з досвідом раннього життєвого стресу показали семикратне перевищення результатів і значне посилення реакції шок-тесту та значно зменшену кількість спроб лизання питної води при тестуванні за конфліктним тестом Фогеля, що свідчить про тривожний стан.

3. Оцінка соціальної поведінки (на основі *стандартного тесту на соціальний стрес та тесту на домінують-покірну поведінку*): ми виявили, що тварини з групи РЖС демонстрували поведінку, не типову для мешканця у стандартному тесті на соціальний стрес. Вони не відразу відреагували на вторгнення чужинця (що проявилось у збільшенні часу затримки атаки), не переслідували чужинця і рідко атакували (мала кількість нападів клінча і невгамування). У тесті на домінують-покірну поведінку гризуни, що зазнали впливу раннього життєвого стресу, виявили більш пригнічену поведінку, виражену у зменшенні часу, проведеного біля годівниці, і вони рідше, ніж тварини контрольної групи, першими потрапляли до годівниці, - тобто демонстрували покірливу поведінку, пов'язану з небажанням конкурувати зі своїм партнером за джерело їжі.

Висновки: наші результати надають важливу нову інформацію про наслідки відокремлення дітей від їх матері на ранніх стадіях розвитку. У порівнянні з особинами з контрольної групи, особини, які були відокремлені від матері і, таким чином, отримали ранній життєвий стрес, демонстрували:

- підвищену індивідуальну тривожність та психоемоційну чутливість дорослих тварин, які зазнали дитячого стресу на основі моделей, заснованих на умовних реакціях (*шок-проби, захисного заховання зонду та конфліктного тесту Фогеля*);

- покірну поведінку, пов’язану з небажанням конкурувати зі своїм партнером за джерело їжі на основі *тесту на домінують-покірну поведінку*;
- відсутність явної агресивної поведінки та прагнення до встановлення ієрархії на своїй території. Це зіткнення соціального стресу із загрозою призвело до того, що щури, які зазнали РЖС програвали битву за територію та опинялись у емоційній та соціальній напрузі.

ALTERATIONS OF THE ERYTHROCYTE MEMBRANES’ BARRIER FUNCTION AT LARYNGEAL CANCER

Burlaka Yu.B.¹, Sukhoveev O.V.², Grin N.V.¹

¹SE “Kolomyichenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

²SE “V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

ulishka82@gmail.com

Aim. Among the various functions of cell membranes, one of the most important is the barrier one. Obviously, that the introduction of foreign substances into the membrane violate this consistency. Among the variety of such substances the protein and peptide components of metabolic intoxication (MI) are leading both by the frequency of manifestation and by the variety of complications caused. MI is an integral part of the various diseases that are associated with the impairments of the normal metabolism. According to the common opinion, among this kind of secondary toxins the leading role is played by middle weight molecules (MWM), that are a wide group of substances of predominantly protein-peptide nature. In majority they are produced by non-functional proteolysis. Unlike the original molecules, the structure of such fragments is unbalanced, which makes them capable for interacting with cell membranes and incorporating into the latter. Such membranes’ inclusions are able to aggregate both between themselves and with integral membranes’ proteins. As the result, the conformational mobility of these membranes’ components undergoing changes with the following functional insufficiency of these proteins. All these processes affect significantly the functioning of the various components of the cell membrane and the cell as a whole. In which measure all these factors interfere on the barrier function of membranes seems to be of peculiar importance at cancer that is connected with the development of endogenous intoxication. The erythrocyte informatively reflect the state of cell membranes at the diseases of various etiology and localization. Therefore, the aim of this work was to study of changes in the barrier function of erythrocyte membranes at laryngeal cancer (LC).

Material and Methods. We investigated 40 patients of SE «Kolomiychenko Institute of Otolaryngology». Male patients aged 45–65 years with initial stages of LC were selected for participation. Of them, 20 patients were diagnosed with II stage laryngeal keratotic squamous cell carcinoma and 20 with III stage. The control group was composed of 20 apparently healthy volunteers. Blood samples were obtained in test tubes with 3,8% sodium citrate anticoagulant by standard method. Platelet-poor plasma and erythrocyte mass were obtained by conventional methods of selective centrifugation. The content of MWM were identified in the blood plasma in erythrocyte was determined by the method of Malakhova *at al.* Sorption capacity of erythrocyte membranes (SCEM) was assayed by the method of Togaybayev *at al.* with modifications by Kopytova. Microviscosity of erythrocyte membranes was studied with spin probe method using lipophilic adamantane-based nitroxyl radical AdTEMPO that was synthesized in Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry. We calculated the following parameters from the obtained spectra: the effective rotational diffusion correlation times (τ_{eff}) and temporal change in signal intensity. Statistical processing was carried out using WinPEPI package of programs for biometrics research. For the parameters that corresponded to the normal distribution (according to the results of the Shapiro-Wilk test), the Student's *t*-test was used. Mann-Whitney U-test was used to assess differences between the data on LC of different stages and control group. Differences were considered significant at $p \leq 0,05$.

Results and discussion It has been established that in patients with LC endogenous intoxication is characterized by excessive accumulation of the total pool of MWM both in blood plasma and glycocalyx of erythrocytes, activation of catabolic processes in plasma, redistribution of MWM between the pool of erythrocyte proteins, and accumulation of toxic products or incomplete compensation. The reduction of the SCEM is shown, which is a manifestation of pathological changes in the surface functional activity of erythrocyte membranes, in particular their inability to transport metabolites by blood circulation. The effectiveness of the AdTEMPO for the evaluation of microviscosity of erythrocyte membranes in patients with LC has been confirmed. In our opinion the probe's diffusion may be interpreted as happening in two stages: membrane surface sorption and permeation into lipid bilayer. We can thus observe using EPR spectra various effective τ_{eff} for binding of AdTEMPO to membrane surface (5 min) and during the probe's permeation of erythrocyte membranes (60 min). Primary sorption of AdTEMPO on erythrocyte membranes is associated with increased τ_{eff} , which indicates inhibited torsion of the probe. The effective τ_{eff} further increases in 60 min, yet these changes are not substantial, which may result from disruptions in lipid bilayer structure and integrated proteins. This assumption was confirmed by data of residual signal intensity. Cellular membrane permeability decreases significantly in LC

patients, and this bars intracellular antioxidants from interacting with nitroxyl radical that is on the outer surface of the plasmalemma. The cellular membrane of the healthy volunteers is intact and functions normally.

The results of the work indicate the importance of investigating the indicators of the status of erythrocyte membranes in patients with LC. The study of our proposed indicators can help to find criteria for dynamic monitoring of the condition of patients with LC to improve the assessment of their condition.

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ РІДИН РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ У ДІТЕЙ ШКІЛЬНОГО ВІКУ

Марина Горіла

Дніпровський національний університет, Дніпро, Україна
gorelaya@ukr.net

BIOCHEMICAL INDICATORS OF ORAL LIQUIDS IN SCHOOL-AGE CHILDREN

Marina Gorila

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

The oral fluid composition and properties were studied as an objective criterion for assessing the severity of the course and prognosis of oral cavity tissue diseases and their therapeutic efficacy in school-age children.

В Україні спостерігається значний ріст розповсюженості патології ротової порожнини серед населення, та все більш молодшає вік хворих, що свідчить про недовершеність методів діагностики, які при цьому застосовуються. Тому розробка нових доступних методів виявлення та прогнозування перебігу таких захворювань є важливим для хворих особливо у дитячому віці та для розвитку прикладної і фундаментальної медицини в цілому.

У даній роботі було досліджено 24 зразки ротової рідини або слини та 12 зразків ясеневої рідини від пацієнтів дитячого шкільного віку 12-16 років (КЗ Магдалинівська ЦРЛ), які належали до контрольної групи умовно здорових дітей та до групи пацієнтів з карієсом, у тому числі множинним.

Для досліджень та передбачення імовірності виникнення захворювань, були застосовані швидкі, доступні, біохімічні методи визначення показників ротових рідин – тестові набори від фірми ТОВ «Норма» (м. Київ, Україна). Запропоновані способи діагностики є прості у виконанні, дозволяють підвищити ефективність прогнозування порушень порожнини рота, що дає можливість своєчасно розпочати лікування.

Встановлено, що під час вивчення біохімічних показників складу слини у дітей з множинним карієсом спостерігалось підвищення рН межах 6,8-7,8. Рівень кислотності ротової рідини у більшій кількості дітей з групи контролю перебував у межах фізіологічної норми. Суттєво на рН слини впливав наліт, кількість органічних кислот, які утворюються мікроорганізмами. При рН вище 7,0 створювалися умови для надходження іонів кальцію і фосфору в мінералізовані тканини зуба. Мінеральний склад слини був різноманітний. Аналіз отриманих даних свідчив про зменшення швидкості слиновиділення зі зростанням ступеня активності каріозного процесу у дітей. Так, серед дітей з множинним карієсом цей показник визначався (3,5 мл за 5 хв), у дітей групи контролю досліджуваній показник був в межах нормальних значень (більше, як 5 мл за 5 хв). Слина у дітей з множинним карієсом мала підвищену в'язкість, на відміну від слини дітей групи контролю. Отже, у дітей з карієсом спостерігався підвищений рівень кислотності ротової рідини, що призводило до зниження кальцію та фосфору, внаслідок чого слина втрачала свої мінералізуючі властивості і перетворювалася на рідину, що підтримує процес демінералізації емалі.

Активність амілази слини загалом мала нормальні значення (160,0-320,0) од.акт/л Одночасно у хворих відмічалось зниження активності α -амілази в змішаній слині до $(302,0 \pm 0,33)$ од.акт/л ($p \leq 0,05$) та виявлялось зниження рівня кальцію в змішаній слині на 14 % ($p_{1,2} \leq 0,05$), зниження рівня фосфору в змішаній слині на 9 % ($p_{1,2} \leq 0,05$). Також наявним було гальмування процесів ремінералізації емалі, про що свідчило зменшення активності лужної фосфатази до $(791,92 \pm 19,87)$ нмоль/с \times л.

Порівняльний аналіз властивостей ротової рідини дітей з карієсом і дітей групи контролю продемонстрував підвищення в'язкості, зниження швидкості слиновиділення, підвищення рівня кислотності, зниження вмісту мінеральних речовин, що сприяло інтенсивному ураженню постійних зубів каріозними процесами. Отримані результати свідчили про те, що у дітей з карієсом ротова рідина втрачала свої захисні властивості щодо нейтралізації органічних кислот, які утворювалися в ротовій порожнині і в зубному нальоті в результаті розщеплення вуглеводів, це сприяло тривалому утриманню карієсогенної ситуації в порожнині рота та прогресуванню процесів демінералізації емалі зубів у цієї групи дітей. Результати досліджень підтвердили, що виникнення та розвиток карієсу зубів пов'язані з цілим рядом чинників, як місцевого та і загального характеру. Особливу роль у розвитку карієсу відігравала незадовільна гігієна ротової порожнини, загальний стан організму, та ряд інших

чинників. У ході роботи було визначено поширеність, інтенсивність, особливості клінічного перебігу та структурно-функціональну резистентність твердих тканин зубів у дітей шкільного віку з карієсом, а також оцінено у них мінеральну щільність кісткової тканини. Однією з особливостей перебігу карієсу у дітей 12-16 років є наявність великої кількості зубів із гострим початковим карієсом так званою демінералізацією емалі. Так, у більш ніж половини обстежених дітей до 16 річного віку діагностовано гострий початковий карієс, який локалізується переважно на поверхнях верхніх іклах, та на нижніх премолярах.

Таким чином, клінічні обстеження дітей та лабораторні дослідження дозволили оцінити окремі чинники ризику виникнення множинного карієсу зубів та карієсогенну ситуацію в порожнині рота, під впливом якої і відбувалися зміни твердих тканин зубів. Ці дані можуть слугувати основою обґрунтування для лікувально-профілактичних заходів у дітей з множинним карієсом зубів. Отримані результати щодо біохімічного складу слини дітей дають змогу фахово оцінити причини захворювань слизової оболонки порожнини рота у дітей і органів, розміщених у ній, провести їх профілактику, та лікування. Отже, слина дітей залишається одним із перспективних об'єктів дослідження, що включає повну неінвазивність, багаторазовий і необмежений за об'ємом забір матеріалу.

СТАН СИСТЕМИ ПОЛ-АОЗ У ПАЦІЄНТІВ З КАНДИДОЗОМ ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ТА ЕРОЗИВНО-ВИРАЗКОВИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ВЕРХНЬОГО ВІДДІЛУ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

Марина Горіла

Дніпровський національний університет, Дніпро, Україна

gorelaya@ukr.net

SYSTEM POL-AOP IN PATIENTS WITH CANDIDIASIS IN INFLAMMATORY AND EROSIIVE-ULCERATIVE DISEASES OF THE UPPER GASTROINTESTINAL TRACT

Marina Gorila

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

The activation of the inflammation and strengthening of endogenous intoxication were observed in patients with candidiasis with erosive-ulcerative diseases of the upper gastrointestinal tract. The results can be used in medicine in the treatment of diseases of the upper gastrointestinal tract with complications by candidiasis.

Захворювання органів травлення займають значне місце в патології внутрішніх органів і мають тенденцію до зростання. Такі патології часто виникають у людей найбільш працездатного віку, викликають тривалу тимчасову непрацездатність, нерідко призводять до інвалідності. У структурі сучасної гастроентерології найбільш поширеними є запальні та ерозивно-виразкові захворювання верхнього відділу шлунково-кишкового тракту. Висока їх частота, постійне збільшення чисельності хворих, необхідність зваженого диференційованого підходу до вибору лікувальних схем потребує пошуку нових, більш тонких методів діагностики, в тому числі і ранньої діагностики, потребує більш глибокого вивчення питань етіології і патогенезу.

У ході даної роботи було вивчено стан системи перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту, ступеня запального процесу та ендотоксемії у пацієнтів з різними формами кандидозу. Досліджували сироватку, плазму крові, еритроцити, ліпідний екстракт крові 118 хворих з гастроентерологічною патологією верхнього відділу шлунково-кишкового тракту та з різним ступенем кандидозу, які перебували на лікуванні у ДУ «Інститут гастроентерології Національної академії медичних наук України». Дослідження проводили з використанням методів визначення вмісту дієнових кон'югатів у гептанізопропанольних екстрактах крові, малонового діальдегіду у плазмі крові, активності супероксиддисмутази в еритроцитах, визначення активності церулоплазмину, загальної антиоксидантної активності та вмісту сірмукоїдів у сироватці крові. Активація перекисного окиснення ліпідів проявлялася у збільшенні вмісту первинних – дієнових кон'югатів (в гептановій фазі) (у I групі хворих на 22,4 % та у II групі на 28,3 %) та вторинних продуктів ліпопероксидації – вмісту малонового діальдегіду на 29,9% і на 34,3 % у пацієнтів I та II груп відповідно відносно контролю. На тлі зростання активності ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази і церулоплазмину, встановлено зниження антиоксидантної активності у пацієнтів з гастроентерологічною патологією верхнього відділу шлунково-кишкового тракту та кандидозом. Показано, що у хворих з кандидозом при ерозивно-виразкових захворюваннях верхнього відділу шлунково-кишкового тракту відбувається активація запального процесу та посилення ендогенної інтоксикації. Отримані результати можуть бути застосовані у медицині при лікуванні захворювань верхнього відділу шлунково-кишкового тракту, ускладнених кандидозом.

ОКИСНО-ВІДНОВНА РІВНОВАГА ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ РИФАМПІЦИН/ІЗОНІАЗИД ІНДУКОВАНОГО УШКОДЖЕННЯ

Дмитро Дудінов¹, Ольга Дьомшина¹, Володимир Жилюк²

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро,
Україна

²Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства
охорони здоров'я України», Дніпро, Україна

olga-d2009@ukr.net

REDOX BALANCE IN THE RAT LIVER UNDER RIFAMPYCIN/ISONIAZIDE INDUCED LIVER DAMAGE

Dmytro Dudynov¹, Olga Dyomshyna¹, Volodymyr Zhilyuk²

¹Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

²State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine",
Dnipro, Ukraine

Drug induced liver injury in the treatment of bacterial respiratory diseases is a scientifically proven fact. The combined action of rifampicin and isoniazid, as the most effective system in the treatment of tuberculosis, has a side effect – it causes toxic liver damage. The search for drugs that reduce the hepatotoxic effect is an urgent problem.

Ідіосинкратичне ураження печінки при лікуванні бактеріальних захворювань дихальних шляхів науково доведений факт (Nakim et al., 2018; Shih et al., 2013; Wang et al., 2016). Комбінована дія рифампіцину та ізоніазиду, як найбільш ефективна система при лікуванні туберкульозу, має побічний ефект – викликає токсичне ушкодження печінки. Пошук лікарських засобів, які знижують гепатотоксический ефект протитуберкульозних препаратів є актуальною проблемою (Berezhna et al., 2005; Wipperman et al., 2017; Харченко та ін., 2019).

Експеримент проводили на 32 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 г, що утримувались за стандартних умов віварію Державного закладу «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України» (температура повітря: (22 ± 2) °С, світло/темрява: 12/12 год). Усі експериментальні процедури здійснювали згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках» (2003). Експериментальну модель токсичного ураження печінки відтворювали шляхом повторних інтрагастральних введень ізоніазиду та рифампіцину в дозах 50 мг/кг і 86 мг/кг маси тіла протягом 28 діб з використанням Полісорбату LAUROPAN T/80 (Італія) і дистильованої води в контрольній групі (Berezhna et al., 2005); на 14 добу протитуберкульозної терапії внутрішньо м'язово вводили S-аденозил-L-метіонін («Гептрал®», Abbott Laboratories GmbH, S-ALM) у дозі 35 мг/кг;

інтрагастрально вводили фіксовану комбінацію іпідакрину гідрохлориду/фенібуту («Когніфен®», Olainfarm, Латвія, Ip/Phe) у дозах 1/60 мг/кг; інтрагастрально комбінована терапія, що поєднувала пребіотик Лактулозу в дозі 2680 мг/кг («Нормазе®», Delta Medical Promotions AG, Lac) і пробіотик, що містить 4 млрд активних клітин (КУО) («Йогурт», Pharmascience, Yo). Розрахунок доз проводили з урахуванням вищої терапевтичної дози для людини з використанням міжвидового коефіцієнта перерахунку доз людина/шури.

Встановлено зміщення окисно-відновної рівноваги в печінці шурів за умов рифампіцин-ізоніазид індукованої гепатотоксичності в бік окисних процесів. Таке зміщення супроводжувалося збільшенням у 8 разів концентрації ТБК-активних продуктів. Одночасно, спостерігали активізацію антиоксидантної системи, яка включала каталазу та супероксиддисмутазу. Так, активність каталази збільшувалася у 2 рази, тоді як супероксиддисмутази тільки в 1,2 рази. Отримані результати свідчать про першочергову роль каталази, як антиоксидантного ферменту за умов токсичного ураження печінки протитуберкульозною комбінацією рифампіцин-ізоніазиду. Окрім того, на розвиток окисного стресу в печінці вказує зміна співвідношення концентрації лактат/піруват із збільшенням концентрації лактату майже у 5 разів і зниженням концентрації пірувату майже в 3 рази, що показано в попередніх дослідженнях (Харченко та ін., 2019).

Пошук корегуючих гепатотоксичність рифампіцину та ізоніазиду лікарських засобів був зосереджений на гепатопротекторах, нейропротекторах та пре/пробіотиках. Так, в експерименті було застосовано наступні комбіновані системи: 1) пре/пробіотик – Лактулоза+Йогурт, 2) пре/пробіотик+гепатопротектор – Лактулоза+Йогурт+S-аденозил-L-метіонін і 3) пре/пробіотик+нейропротектор – Лактулоза+Йогурт+Когніфен. Визначення основних діагностичних параметрів прооксидантної та антиоксидантної системи показало відновлення окисно-відновної рівноваги в печінці шурів за умов використання всіх досліджених лікарських засобів.

Таким чином, отримані результати доводять необхідність застосування лікарських засобів, які відновлюють мікрофлору кишечника, як окремо, так і у поєднанні з гепатопротекторами з метою зниження проявів ідіосинкратичного ураження печінки протитуберкульозними препаратами рифампіцину та ізоніазиду. Також, слід зазначити необхідність продовження досліджень в напрямку виявлення гепатопротекторних властивостей нейропротектора «Когніфен», прояви яких встановлено в даних дослідженнях.

АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ *IN VITRO* ЕКСТРАКТИВ ЯКОНА ТА КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО

Галина Гачкова, Лідія Міщенко, Наталія Сибірна
Львівський національний університет імені Івана Франка
halyna.hachkova@lnu.edu.ua

IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF YACON AND GALEGA OFFICINALIS L. EXTRACTS

Halyna Hachkova, Lidiya Mishchenko, Natalia Sybirna
Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine

The antioxidant activity and total polyphenol content in water-ethanol extract of yacon leaves and alkaloid-free fraction from *Galega officinalis* were investigated. Antioxidant activity was evaluated in *in vitro* systems using free radicals DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and FRAP (ferric reducing antioxidant power) assays. The antioxidant activity of the extracts was consistent with the content of phenolic compounds in them.

Обґрунтування та мета. При розробці стратегії лікування патологій, які протікають на тлі оксидативного стресу, і, зокрема, цукрового діабету, доцільно застосовувати препарати антиоксидантної дії, які підвищують буферну ємність антиоксидантного захисту організму. У роботі було використано екстракти лікарських рослин – якона (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. et Endl.) та козлятника лікарського (*Galega officinalis* L.), які відомі своєю антидіабетичною дією. Метою роботи було дослідити антиоксидантну активність екстрактів якона та козлятника лікарського в умовах *in vitro* та вміст у їхньому складі сполук фенольної природи, які здатні уловлювати вільні радикали, з перспективою застосування цих екстрактів, як основи функціональних харчових продуктів антидіабетичної дії.

Методи. Загальний вміст сполук фенольної природи визначали за методом Фоліна-Чокальтеу і виражали в мг/г екстракту в еквіваленті галової кислоти. Антиоксидантну активність оцінювали в системах *in vitro*, використовуючи вільні радикали DPPH та ABTS. Загальну відновлювальну здатність визначали методом FRAP.

Результати. Проведені дослідження продемонстрували, що безалкалоїдна фракція екстракту козлятника лікарського (БФЕКЛ) та 50 % водно-етанольний екстракт листя якона виявляють антиоксидантну активність щодо нейтралізації активних форм Оксигену. Екстракт листя якона володіє більш вираженими антиоксидантними властивостями, ніж БФЕКЛ, що є зумовлено вищим вмістом у складі якона поліфенольних сполук, які залучені у процеси скавенджерування вільних радикалів.

Висновки. Зважаючи на підвищення попиту на натуральні антиоксидантні препарати профілактичної та лікувальної дії, лікарські рослини – якон та козлятник лікарський можуть слугувати джерелом біологічно активних речовин для створення ефективних природнозбалансованих функціональних харчових продуктів.

SEMICARBAZIDE INHIBITS THE SIGNS OF BLEOMYCIN-INDUCED PULMONARY FIBROSIS IN RATS

Olha Hudkova, Nely Latyshko, Iryna Krysiuk, Tetiana Kishko, Kateryna Tokarchuk, Natalia Popova, Tetiana Volodina, Serhiy Shandrenko
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,
Kyiv, Ukraine
ogudkova@biochem.kiev.ua

Background and aim. Pulmonary fibrosis is a chronic progressive interstitial disease characterized by tissue scarring and a violation of its architecture, which leads to decreased lung function. There is an assumption that the main contribution to the pathogenesis of pulmonary fibrosis is made by the cellular phenotype changes, as a consequence of epithelial–mesenchymal transition (EMT), matrix-producing mesenchymal cells (fibroblasts/myofibroblasts) accumulation and extracellular matrix (ECM) deposition. Thereby, enzymes involved in the post-translational modifications of collagen, such as lysyl oxidase (LOX) and semicarbazide sensitive amine oxidase (SSAO), are potentially the main participants in pulmonary fibrosis development. However, the features of regulatory interrelation between amine oxidases and molecular components of redox state system underlying this pathology are poorly understood. So, using bleomycin-induced lung fibrosis model in rats we aimed to perform system analysis of amine oxidase activities, LOX, SSAO, diamine oxidase and polyamine oxidase (DAO, PAO), and tissues redox state (free radicals level and activities of xanthine oxidase (XO), Cu,Zn- and Mn-superoxidedismutase (SOD 1,2), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx)) as well as the ability of semicarbazide (SC), irreversible inhibitor of Cu-containing amine oxidases (LOX, SSAO, DAO), to regulate their action to improve the lung state.

Materials and methods. 18 male Wistar rats weighing more than 200 g were divided into 4 experimental groups: “Control” - intact animals; “BLM” - animals treated intratracheally once with bleomycin (BLM) 5 mg/kg of body weight; “BLM+SC” animals obtaining SC at a concentration of 0.005% with drinking water for three weeks immediately after BLM treatment; “Control+SC” - intact animals obtaining SC at the same concentration with drinking water simultaneously with “BLM+SC” group. Fixed lung tissues were processed

routinely and embedded in paraffin wax. Sections (4 μm) were stained with haematoxylin and eosin and haematoxylin–Van Gieson’s stain for collagen and evaluated using Nikon microscope (Japan). Morphometry was carried out by means of the computer program “IMAGE J”. Cell fractions, obtained by differential centrifugation, were used for enzymatic activities assays using fluorometric and spectrophotometric microplate riders FL \times 800 and μ Quant (USA).

In the collagen hydrolysates obtained from the rats lungs, total collagen and its soluble and insoluble forms were determined by the content of hydroxyproline.

Liver tissue and blood from each animal were subjected to EPR spectrometry at the temperature of liquid nitrogen with radiospectrometer (“Varian E 109”, USA) to determine free radicals and cytochrome P-450 (CYP-450) content.

Results. On day 21 after the introduction of BLM, histological and computer-assisted morphometric data confirm the development of fibrosis in the rat lung. Wherein, we observed a statistically significant increase (by 1.5-3 times) in the activity of all studied AOs as a sign of inflammation (SSAO, DAO) and the development of lung connective tissue pathology (LOX, SSAO). Besides, the ratio of crosslinked collagen to its soluble form (uncrosslinked collagen) calculated as % per 1 mg of total protein in lung tissue of “BLM” group raised almost twice as compared to control that correlated with change in the activity levels of corresponding enzymes (LOX, SSAO). Significant activation of DAO and PAO under development of BLM-induced lung fibrosis also indicated an important role played by polyamines in this pathology. This effect additionally is a witness of increased L-ornithine level, the precursor of polyamines and proline, and the last is necessary for production of collagen. Under these conditions we observed free radicals quantity lifting in blood and liver of fibrotic animals for 25% and 30%, correspondingly. It testifies to oxidative stress developed in these tissues of BLM animals, not compensated by the adequate activation of the antioxidant enzymatic system, SOD 1,2 and CAT. Partial antioxidant protection was realized due to GPx. Administration of SC in the selected dose inhibited fibrosis development that was confirmed by histological data. Thus, we consider SC to be effective anti-fibrotic drug. The content of CYP450 that is known to metabolize the majority of drugs, in the liver of intact animals that received a solution of SC for 3 weeks, did not change compared with the control group. This indicates the non-toxicity of such amount of the compound to experimental animals. SC treatment was accompanied by normalization of activities of Cu-containing AOs (LOX, SSAO and DAO), sufficient contributors to lung connective tissue pathology, by our opinion. At the same time, SC suppressed oxidative stress development (free radicals quantity and antioxidant enzymes activities remained at the control level).

Conclusions. SC attenuates signs of rat pulmonary fibrosis that supports implication and importance of Cu-containing AOs in the disease pathogenesis and reflects complex molecular background involved, including EMT, inflammation and oxidative damage. Identified molecular targets of SC provide a novel potential opportunity to improve therapeutic strategies of pulmonary fibrosis.

FIBRONECTIN ISOFORMS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC DIFFUSE LIVER DISEASE

Hanna Dolhich, Hanna Maslak, Volodymyr Didenko, Inna Klenina
Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine, Dnipro,
Ukraine

State Institution «Institute of Gastroenterology of National Academy of Medical
Sciences of Ukraine», Dnipro, Ukraine

ganna_maslak@gmail.com

Background and aim. Chronic diffuse liver disease is characterized by the steady progression of fibrosis with the accumulation of excessive extracellular matrix and scar tissue in the parenchyma of the organ. Fibronectin plays a vital role in tissue repair. Glycoprotein isoforms are simultaneously part of the fibrous matrix of the liver and circulate in plasma. The expression and content of plasma and cellular fibronectin depends on the phase of the disease and the stage of progressive fibrosis. The aim of the study was to determine the level of plasma and cellular forms of fibronectin in chronic diffuse liver disease.

Methods. The blood of patients with chronic diffuse liver disease aged 28-60 years (n=36), who were hospitalized in the Department of Liver and Pancreatic Diseases of the Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. The control group consisted of 15 healthy donor volunteers, aged 25 to 52 years without a history of liver disease or other immune diseases.

Plasma and cell fibronectins levels were determined by ELISA. In the case of cellular fibronectin, monoclonal antibodies provided adhesion to the cell-binding domain RGD (FN30-8; M010 TaKaRa Shuzo Co. Ltd., Shiga, Japan) located in the center of this glycoprotein, and in the case of plasma fibronectin - to all fibronectin binding sites (ab2413; Abcam, Cambridge, UK). The secondary antibodies conjugated to horseradish peroxidase: goat anti-mouse IgG (A16066, ThermoFisher Scientific, US) and anti-rabbit goat immunoglobulins (31466, ThermoFisher Scientific, US) were used. The optical density of the test samples was determined using a spectrophotometer "Humareader" (Human, Germany, 2001) at a wavelength of 492 nm.

Results. In patients with chronic diffuse liver disease, a statistically significant decrease in plasma fibronectin concentration was decreased by 27.6% compared to the control group. For the cellular form of fibronectin, the established concentration in blood plasma for the group of almost healthy donors is equal to $1.71 \pm 0.05 \mu\text{g} / \text{ml}$. At the same time, an increase in plasma concentrations of cellular fibronectin in the presence of chronic diffuse liver disease relative to the norm by an average of 63.8% was shown.

Conclusions. The study evaluated the possibility of using of fibronectin isoforms in patients with chronic diffuse liver disease as serological biomarkers.

EFFECT OF IRIDOIDS AND ANTHOCYANINS FROM THE *CORNUS MAS L.* FRUITS ON THE ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM IN LEUKOCYTES UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

**Olha Dzydzan ¹, Anna Moroz ¹, Mariana Seniv ¹, Alicja Z. Kucharska ²,
Iryna Brodyak ¹, Natalia Sybirna ¹**

¹Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine

²Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland

olichkadz94@gmail.com

Remedies based on medicinal plant can have beneficial effect on human health and significantly enhances therapeutic capabilities in combination with other medicine. Despite the large number of available drugs, scientists continuously conduct a search and investigate the mechanism of action of phytopreparations. In our previous investigation, we showed that extracts of red and yellow fruits of the *Cornus mas L.* demonstrated the antidiabetic properties in rats with diabetes mellitus. The blood is one of the first tissue, which respond to the adverse changes in organism under diabetes mellitus. Therefore, the aim of our study was to evaluate effects of iridoids (extracts of yellow fruits) and a mixture of iridoids with anthocyanins (extracts of red fruits) on oxidative stress-related parameters and activity of antioxidant enzymes in leukocytes of rats with diabetes mellitus.

The investigation was conducted in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of 22.10.2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Wistar male rats were used in the experiments. Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin at a dose 60 mg/kg bw. On the 10th day of experiments, animals with streptozotocin-induced diabetes mellitus were randomly divided into three groups. The first group consist of control diabetic animals. The second group were treated with 1 ml of extract solutions of red fruits of the *Cornus mas L.* in the amount of 20 mg/kg bw daily for 14 days, intragastrical, while the another group of animals with diabetes received 1 ml of extracts of yellow fruits in the

same dose. The level of reduced glutathione (GSH), TBA-reactive substances (TBA-RS) and activity of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) were determined in rats' leukocytes.

The imbalance between the production of free radicals under condition of hyperglycemia and the functioning of antioxidant system leads to disruption of blood leukocytes compare to control group of animals. A mixture of iridoids with anthocyanins demonstrated the antioxidant effects via the decreased TBA-RS (23%), and increased of GSH (43%) and SOD (87%), CAT (43%), GPx (21%), GR (23%) activity. Moreover, iridoids ameliorated antioxidant status in leukocytes, measured as decreased TBA-RS (31%), and increased GSH (33%) and SOD (22%), CAT (42%), GPx (24%) activity. GR activity tends to increase in these diabetic groups of rats.

In conclusion, our study proved that iridoids and a mixture of iridoids with anthocyanins from the *Cornus mas* L. fruits restore oxidant-antioxidant balance in leukocytes of rats with diabetes mellitus.

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА СТАН ПЕЧІНКОВОЇ ТКАНИНИ В ЩУРІВ У МОДЕЛІ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТИПУ 2

Анастасія Кіян¹, Ольга Дьомшина¹, Володимир Жилюк², Світлана Кириченко¹

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, Україна

²Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», Дніпро, Україна

anastasiyakiyan@ukr.net

IMPACT OF MELATONIN ON THE RATS LIVER IN THE MODEL OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Anastasia Kiyani¹, Olga Dyomshyna¹, Svitlana Kyrychenko¹, Volodymyr Zhilyuk²

¹ Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

² State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

Melatonin is a drug that corrects sleep disorders, biorhythm, oxidative stress. One of the theories of the formation of type 2 diabetes mellitus is stress, therefore, the study of melatonin on the body with insulin deficiency is appropriate. The liver is the main organ for the neutralization of exogenous metabolites; therefore, its monitoring is an important stage in any study of the action of drugs.

В науковому середовищі однією з актуальних тем дослідження є цукровий діабет (ЦД) типу 2. Актуальність цих досліджень полягає в тому, що дане захворювання все частіше діагностується в осіб репродуктивного віку. Незважаючи на значну кількість робіт присвячених патогенезу та лікуванню ЦД, це захворювання, на сьогодні, залишається значною медико-соціальною проблемою. Також, важливим аспектом таких досліджень є встановлення доцільності медикаментозного лікування. Більшість лікарських засобів, які використовують за умов формування ЦД типу 2 виявляють гепатотоксичність: троглітазон (Shehu et al., 2017; Kolaric et al., 2019), глібенкламід (Patel et al., 2016; Kolaric et al., 2019), репаглінід (Almazroo et al., 2017). Тому, пошук ефективних анти діабетичних лікарських засобів є актуальним питанням. Так, мелатонін – лікарський засіб, який використовують з метою корекції порушення сну, окисного стресу, сезонних розладів і порушення біоритму, ефективний адаптоген. Мелатонін – біогенний амін, нейрогормон шишкоподібної залози. Однією з теорій формування ЦД типу 2 є стрес, тому дослідження мелатоніну на організм за інсулінової недостатності є доцільним. У зв'язку з тим, що печінка є органом, який знешкоджує як ендогенні, так і екзогенні метаболіти, моніторинг стану даного органу є важливим етапом будь-якого дослідження дії лікарських засобів (Галенова, 2010). Тому мета роботи полягала в встановленні стану печінки щурів із ЦД типу 2 за умов застосування мелатоніну.

Експеримент проводили на щурах – статевозрілих самцях лінії Вістар масою 230-250 г відповідно до норм утримання, вимог та правил поводження з лабораторними тваринами. Формування ЦД типу 2 індукували шляхом введення внутрішньочеревинно стрептозотоцину в дозі 65 мг/кг ваги тварини в вигляді 5% розчину в цитратному буфері, рН 4,5 (Галенова, 2010). Мелатонін (Віта-мелатонін, ВАТ «Київський вітамінний завод», Україна) вводили внутрішньошлунково один раз на добу протягом останніх 7 днів експерименту. Доза препарату становила 10 мг/кг, що відповідає терапевтичному діапазону (ED50), що рекомендується в експериментальних дослідженнях відповідно до формули перерахунку. Контрольна група тварин у відповідний період експерименту отримувала воду.

За умов формування експериментального ЦД типу 2 у печінці щурів спостерігали розвиток окисного стресу, що підтверджено зростанням вмісту ТБК-активних продуктів на 75% та пригніченням активності основних антиоксидантних ферментів: СОД у 4 рази, КТ у 1,2 рази відносно контрольної групи. Також, відповіддю печінки на формування ЦД типу 2 було підвищення рівня печінкової трансамінази – аспартатамінотрансферази (АсАТ) у 2,25 разів та зниження активності лактатдегідрогензи (ЛДГ) на 23%, що свідчить про сповільнення

вуглеводного обміну в печінці. Застосування мелатоніну в якості лікарського засобу, який корегує прояви діабету, призводило до відновлення окисно-відновного балансу та вуглеводного обміну в печінці на рівні контрольної групи тварин.

Таким чином показано відсутність проявів гепатотоксичності мелатоніну, підтверджено його адаптогенні властивості та безпечність застосування за умов формування ЦД типу 2.

PROTEOLYTIC INDICES AND CONTENT OF α 2-MACROGLOBULIN IN BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH LARYNGOPHARYNX CANCER

Klys' Yu.G., Burlaka Yu.B., Voroshylova N.M., Gryn' N.V.

SE “Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of
Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

ulishka82@gmail.com

Aim. The development of local oncologic processes is related closely to a number of systemic effects of the whole organism. A significant place belongs to dysfunction of haemostatic system caused by complex interactions of malignant cells and stroma elements. Tumor cells produce a wide number of proteolytic enzymes that enter to systemic circulation and activate the proenzymes of homeostatic system. This effects local and systemic homeostasis, promotes invasion, and leads to the accumulation of peptide factors in blood circulation. Some of these factors are toxic. The excessive secretion and activation of proteinases cause the violation of proteinase-inhibitory balance in blood. At the same time, the indices of the proteinase-inhibitory system may be used to improve the diagnosis of tumor and evaluate the efficacy of different treatments.

Material and Methods. The study involved patients who were hospitalized in the Department of Cancer of ENT organs of the SE «Kolomiychenko Institute of Otolaryngology» (Kyiv, Ukraine). The study involved 66 patients with morphologically confirmed squamous cell carcinoma of the laryngopharynx (LPC) stages III-IV (T2-4N0-2M0). The control group consisted of 20 apparently healthy volunteers. The patients were divided into the main group (A) and the comparison one (B). Both groups underwent 3 cycles of neoadjuvant chemotherapy with an interval of 21-28 days. During the detoxification therapy the main group received arginine-containing drugs and enterosorbent. The patients of comparison group received solutions of crystalloids. Blood samples were obtained from median cubital vein puncture of fasting patients in the morning and mixed with 3,8% sodium citrate anticoagulant (9:1) in plastic test tubes. Trypsin-like activity (TLA) was determined by the method of

Weremeenko at al. by the rate of the cleavage of protamine and expressed in nmol of released arginine per 1 min/ml of plasma. Thrombin-like activity (ThrLA) was determined by amount of p-nitro aniline (p-NA) at cleavage of chromogenic substrate S2238 and expressed in nmol p-NA per 1 min/ml plasma. The content of α 2-macroglobulin (α 2M) was measured by the method of Weremeenko at al. and expressed in g per 1 liter plasma. Statistical processing was carried out using WinPEPI package of programs for biometrics research. For the parameters that corresponded to the normal distribution (according to the results of the Shapiro-Wilk test), the Student's t-test was used, to assess the difference between the groups. Differences were considered significant at $p \leq 0,05$.

Results and discussion The noticeable deviations of proteolytic indices in plasma of LPC patients were revealed. It was found that before treatment the level of TLA exceeded relative to the control value in 1,4 times ($p < 0,02$). After the treatment LPC patients of group A the level of TLA was decrease in 1,3 times on average in comparison to baseline before treatment were noted ($p < 0,02$), i.e. it was reduced to the level of control. In patients of group B, after treatment, this index was also decreased in 1,2 times compared to its level before treatment, but still exceeded control values. Prior to treatment the level of ThrLA was significant increase in 2,5 times in comparison to control group ($p < 0,05$). After the therapy in the group A this index decreased in 2,3 times compare to initial level ($p < 0,05$), and approached to the level of healthy persons. In patients of group B after the treatment the level of ThrLA decreased 1,8 times relative to its baseline value but at the same time it remained higher than that of control. Pre-treatment content of α 2M in both groups of patients was significant reduced by an average 1,2 times relative to the control group value ($p < 0,05$). Both treatments have led to the normalization of this index.

The analysis of our results showed that the dynamics of changes in proteolytic parameters and the α 2M content in both type of treatment regimens is positive. In patients of both groups the levels of TLA and ThrLA were directed to normalization, and the level of α 2M reaches to the control value, too. These data support the idea of quite effectiveness of both approaches with some advantage of the combined use of arginine and enterosorbent.

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЗГОРТАЛЬНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ МЕРКАЗАЛІЛОВОГО ГІПОТИРЕОЗУ

**Тетяна Коломійчук, Ольга Макаренко, Людмила Карабаджак,
Юлія Каракай**

Національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна
tkolomiichuk_odes@ukr.net

DYNAMICS OF RAT'S BLOOD COLLECTING SYSTEM INDICES UNDER THE CONDITIONS OF MERCASALYL HYPOTHYROIDISM

Tatiana Kolomiichuk, Olga Makarenko, Ludmila Karabadzhak, Julia Karakai
I.I. Mechnikov National University, Odesa, Ukraine

The simulation of hypothyroidism in rats impaired blood coagulation properties (increase in the time of formation of the first thread of fibrin and fibrin clot and decrease in the number of platelets). The use of complex therapy (Wobenzyme and a complex of vitamins A, E, C), against the background of the formed mercasolyl hypothyroidism, showed a tendency to normalize the studied indicators.

Первинно виникаючі зміни функціональної активності щитовидної залози, в тому числі і гіпотиреоз, призводять до порушень гемостазу. У наш час широко використовується ензимотерапія для лікування запальних та дегенеративних захворювань, завдяки позитивному впливу на ключові фізіологічні і патофізіологічні процеси. Відомо, що ензимотерапія проявляє протизапальну, імуномодулюючу, протинабрякову та анальгезуючу дію, сприяє покращенню мікроциркуляції і реологічних параметрів крові.

У зв'язку з цим, метою дослідження було визначення показників згортальної системи крові щурів при моделюванні мерказолілового гіпотиреозу на тлі застосування ензимотерапії в комплексі з вітамінами.

Методи. Дослідження було проведено на 24 білих безпородних щурах, масою 280-300 г. Для моделювання гіпотиреозу протягом 28 діб щоденно перорально вводили мерказоліл із розрахунку 5 мг/100 г маси тварини. Щурів було розподілено на три групи. Перша – інтактні тварини, друга – тварини, яким моделювали гіпотиреоз, третя – щури, які на тлі моделювання гіпотиреозу отримували щоденно перорально комплекс препаратів: wobenzim, аскорбінову кислоту, аевіт. До та після моделювання гіпотиреозу оцінювали стан тварин, у периферійній крові щурів проводили визначення показників коагуляційного гемостазу (час початку, закінчення згортання крові та підрахунок кількості тромбоцитів). Наприкінці експерименту розраховували органний індекс.

Результати. Відомо, що коагуляційний гемостаз залежить певною мірою від кількості клітин крові і особливо від кількості тромбоцитів. На 28 добу експерименту у щурів 2-ої групи було визначено вірогідне

зменшення тромбоцитів на 22,8 % у порівнянні з вихідним показником тварин цієї групи. Це може бути обумовлено порушенням процесу вивільнення тромбоцитів з мегакаріоцитів за умов розвитку гіпотиреозу, що узгоджується з даними літератури. У тварин 3-ої групи при застосуванні комплексної терапії виявлено лише тенденцію до зменшення тромбоцитів порівняно з вихідним показником і тваринами інтактної групи. Незважаючи на те, що кількість тромбоцитів знаходилась у межах норми, зменшення їх числа наприкінці моделювання гіпотиреозу обумовило зниження коагуляційних властивостей крові щурів. Проявом цього свідчило збільшення часу утворення першої нитки фібрину та часу утворення згустку.

Наприкінці експерименту в умовах розвитку гіпотиреозу у щурів 2-ої та 3-ої груп відмічали збільшення часу утворення першої нитки фібрину на 36,9 та 45,3 % у порівнянні з вихідним показником і на 16,5 та 22,7 % відносно показника інтактних тварин

Час утворення згустку в крові щурів 2-ої та 3-ої групи вірогідно збільшився на 32,4 та 49,9 % по відношенню до вихідного рівня і на 19,8 та 25,5 % по відношенню до показника тварин контрольної групи.

Застосування комплексної терапії не викликало стабілізації показників часу згортання крові, але при цьому виявлена тенденція до нормалізації кількості тромбоцитів. Можливо застосування комплексу активувало процес вивільнення тромбоцитів та покращило реологічні властивості крові.

Моделювання гіпотиреозу призвело до вірогідного збільшення органного індексу щитовидної залози у 3,3 рази, а за умов терапії - лише у 2,2 рази по відношенню до показника інтактних щурів.

Таким чином, застосування комплексної терапії не нормалізувало показники згортання крові у щурів на тлі розвитку гіпотиреозу, але була виявлена стабілізація кількості тромбоцитів, показника органного індексу і стану тварин.

Висновки.

1. Визначено зменшення кількості тромбоцитів у крові щурів за умов гіпотиреозу на 25 %, а при застосуванні комплексної терапії на 17 % у порівнянні з показником контрольної групи.

2. За умов моделювання гіпотиреозу у щурів 2-ої та 3-ої групи час утворення першої нитки фібрину збільшився на 16,5 та 22,7 % по відношенню до показника контрольної групи.

3. Визначено, що час утворення згустку крові у щурів на тлі гіпотиреозу та при застосуванні комплексної терапії збільшився на 19,8 та 25,5 % відповідно по відношенню до показника тварин контрольної групи.

4. Застосування комплексної терапії на тлі гіпотиреозу обумовило нормалізацію стану тварин, зменшення органного індексу на 34 % та

сприяло розвитку тенденції до збільшення кількості тромбоцитів у периферійній крові по відношенню до показника щурів, які її не отримували.

МЕТАБОЛІЗМ НІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ В ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОДНОРАЗОВОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

Оксана Кокоскіна, Олександр Запорожченко
Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Одеса,
Україна
sana33@ukr.net

NICOTIC ACID METABOLISM IN RAT TISSUES AFTER SINGLE X-RAY IRRADIATION

Oksana Kokoshkina, Oleksandr Zaporozhchenko
Odesa National University I.I. Mechnikov, Odesa, Ukraine

The introduction of ^{14}C -nicotinic acid at a dose of 10 mg/kg without showing a significant effect on the level of reduced nicotinamide coenzymes, in combination with X-ray irradiation at a dose of 6 Gy contributed to a significant increase in NADH+NADPH in the brain, small intestine and liver. tissue potential, as in the body's adaptive response to radiation exposure.

Відомо, що іонізуюче опромінення має модифікуючий вплив на мембранні структури клітин та ферментні системи, зокрема на НАД-залежні дегідрогенази, які відіграють важливу роль в метаболічних процесах. Враховуючи, що коферментні форми вітаміну РР виявляють регуляторний вплив на швидкість та напрям метаболічних процесів, постає питання про перерозподіл та метаболічні особливості нікотинової кислоти в організмі тварин. Тому мета нашого дослідження полягала в дослідженні метаболізму нікотинової кислоти в тканинах щурів після введення ^{14}C -нікотинової кислоти та одноразового рентгенівського опромінення.

Методи. Щурам 1 групи внутрішньом'язово вводили 0,9% розчин хлориду натрія (контрольна група). Тваринам 2 групи внутрішньом'язово вводили нікотинову кислоту в дозі 10 мг/кг маси (НК). Щури 3 групи отримували рентгенівське опромінювання в дозі 6 Гр (РО). Тваринам 4 групи внутрішньом'язово вводили НК в дозі 10 мг/кг маси і опромінювали (РО+НК). Щурам всіх груп вводили внутрішньом'язово ^{14}C -НК (загальна активність 0,1 мКи (37 мБк), питома активність 4,2 ГБк/ммоль) в дозі 1 мг на кг маси тварини. Через 6 годин після радіохроматографії в крові та тканинах визначали метаболіти НК.

Результати. Встановлено, що в групі тварин при введенні НК інтенсивність утворення нікотінурової кислоти значно перевищує

швидкість синтезу нікотинамідних коферментів. РО і РО в поєднанні з НК сприяло зростанню рівня нікотинамідних коферментів, особливо суми НАДН і НАДФН в печінці, тонкому кишечнику, нирках і в мозку.

Висновок. Введення НК не виявляючи суттєвого впливу на рівень суми відновлених нікотинамідних коферментів, при поєднанні з РО зростанню відновного потенціалу тканин, як у адаптаційна реакція організму на радіаційний вплив.

МИТОХОНДРІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ НА ФОНІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТИПУ 2

**Марина Кудряшова¹, Ольга Дьомшина¹, Володимир Жилюк²,
Світлана Кириченко¹**

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро,
Україна

²Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства
охорони здоров'я України», Дніпро, Україна
e-mail: maryna.kudryaschova469@gmail.com

RATS LIVER MITOCHONDRIA UNDER THE IMPACT OF MELATONIN WITH OF THE TYPE 2 DIABETES MELLITUS

**Maryna Kudryaschova¹, Olga Dyomshyna¹, Svitlana Kyrychenko¹,
Volodymyr Zhilyuk²**

¹Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

²State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine",
Dnipro, Ukraine

Type 2 diabetes mellitus is one of the most common diseases in the world. The search for drugs that prevent the development of this disease and its complications has been an urgent issue among scientists for a long time. However, numerous studies have shown high hepatotoxicity of many antidiabetic drugs. The reason is mitochondrial dysfunction. The search for antidiabetic drugs that do not cause mitochondrial dysfunction is still ongoing.

Цукровий діабет типу 2 є одним з найпоширеніших захворювань в усьому світі. Пошук лікарських засобів, які запобігають розвитку цієї хвороби та її ускладнень є актуальним питанням серед науковців досить тривалий час. Однак, багаточисельні дослідження показали високу гепатотоксичність багатьох таких засобів: троглітазон, глібенкламід, репаглінід (Almazroo et al., 2017; Kolaric et al., 2019; Patel et al., 2016; Stieger, 2011; Yang et al., 2013). Однією з причин прояву гепатотоксичності є мітохондріальні дисфункції (Masubuchi et al., 2006; Julie et al., 2008; Okuda et al., 2010; Pauli-Magnus et al., 2010), що призводить до порушення енергетичних процесів у клітинах печінки, які тісно пов'язані з

вуглеводним обміном. Наслідком мітохондріальних дисфункцій є надмірна продукція вільних радикалів (активних форм кисню, АФК), мішенями для яких стають клітини. Тому, лікарські препарати з виявленою гепатотоксичністю виведені з ринку використання. А, пошук антидіабетичних лікарських засобів, які не викликають мітохондріальні дисфункції, досі триває. Тому, мета роботи полягала в дослідженні стану мітохондрій печінки за умов впливу мелатоніну на фоні стрептозотоцин-індукованої гіперглікемії.

Експеримент проводили на щурах – статевозрілих самцях лінії Вістар масою 230-250 г відповідно до норм утримання, вимог та правил поводження з лабораторними тваринами. Експериментальну модель індукували шляхом введення внутрішньочеревинно стрептозотоцину в дозі 65 мг/кг ваги тварини в вигляді 5% розчину в цитратному буфері, рН 4,5 (Галенова, 2010). Мелатонін (Віта-мелатонін, ВАТ «Київський вітамінний завод», Україна) вводили внутрішньошлунково один раз на добу протягом останніх 7 днів експерименту. Доза препарату становила 10 мг/кг, що відповідає терапевтичному діапазону (ED50), що рекомендується в експериментальних дослідженнях відповідно до формули перерахунку. Контрольна група тварин у відповідний період експерименту отримувала воду. Мітохондрії печінки виділяли методом диференціального центрифугування (Wieckowski et al., 2009) у середовищі виділення.

Встановлено, що інтоксикація стрептозотоцином викликає мітохондріальні дисфункції клітин печінки, що супроводжувалось зниженням ефективності електрон-транспортного ланцюга за рахунок зниження активності сукцинатдегідрогенази (СДГ, комплекс II) майже у 3 рази порівняно з контрольною групою. Одночасно, такі зміни вказують на зниження ефективності роботи циклу трикарбонових кислот, однією з ділянок якого є СДГ. На встановлені зміни також вказує підвищення в 10 разів концентрації пірувату в мітохондріях. Також, відбувалось зниження ефективності процесу утилізації аміаку, активним учасником якого є аспаратамінотрансфераза (АсАТ), активність якої знижувалась у 2,5 рази порівняно з контрольною групою. Застосування мелатоніну в якості коригуючого засобу проявив ЦД типу 2 сприяло відновленню функціонування мітохондрій, що супроводжувалося відновленням активності СДГ, АсАТ і зниженням концентрації пірувату.

Таким чином, проявом стрептозотоцин-індукованого ЦД типу 2 є мітохондріальні дисфункції клітин печінки, за рахунок пригнічення функціонування дихального ланцюгу, циклу трикарбонових кислот і циклу сечовини. Застосування мелатоніну сприяло зниженню токсичних проявів захворювання. Отримані результати потребують подальших досліджень та можуть надати додаткову інформацію про можливі механізми розвитку печінкової інсулінорезистентності та її корекції.

ІМУНОБІОХІМІЧНІ ФАКТОРИ ФОРМУВАННЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В УМОВАХ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ПАТОЛОГІЇ

Ліпкан Н.Г., Кучменко О.Б., Мхітарян Л.С.

Ніжинський Державний Університет імені Миколи Гоголя, Ніжин, Україна
ДУ ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д.Стражеска» НАМН України,
Київ, Україна
lipkannaira@ukr.net

IMMUNOBIOCHEMICAL FACTORS OF OXIDATIVE STRESS FORMATION IN THE CONDITIONS OF CARDIOVASCULAR PATHOLOGY

Lipkan N., Kuchmenko O., Mkhitaryan L.

NSC “The M.D. Strazhesko Institute of Cardiology NAMS of Ukraine”, Kyiv, Ukraine;
Mykola Gogol Nizhyn State University, Nizhyn, Ukraine

Currently, there is no doubt about the important role of oxidative stress, which develops due to excessive activation of free radical oxidative processes, primarily lipid peroxidation with the accumulation of end products of their oxidation and reduced activity of antioxidant systems. At the same time, many researchers suggest a relationship between the immunoinflammatory activation and the intensity of oxidative stress.

Обґрунтування: В теперішній час не викликає сумніву важлива роль оксидативного стресу, який розвивається внаслідок надмірної активації вільнорадикальних (ВР) окиснювальних процесів, в першу чергу перекисного окиснення ліпідів з накопиченням кінцевих продуктів їх окиснення та зменшенням активності антиоксидантних систем. В той же час багато дослідників припускають взаємозв'язок між наявністю імунозапальної активації (ІА) та інтенсивністю окиснювального стресу (ОС).

Метою даної роботи було оцінити інтенсивність ВР окиснювальних процесів, показників ІА та стану антиоксидантних ферментних систем у 123 хворих на хронічну серцеву недостатність (ХСН) на фоні ішемічної хвороби серця (ІХС) та артеріальної гіпертензії (АГ). Контрольну групу склали 30 практично здорових осіб.

Методи дослідження: інтенсивність ОС визначали шляхом спектрофотометричного визначення первинних та кінцевих продуктів ВР окиснення ліпідів - дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА), кінцевих продуктів ВР модифікації білків-1,4-динітрофенілгідрозонів (ДНФ), активності каталази та супероксиддисмутази (СОД). Наявність імунозапальної активації оцінювали шляхом спектрофотометричного визначення в сироватці крові кількості С-реактивного білку; функціональну активність моноцитів

(спонтанну та стимульовану), а також їх резервну поглинальну здатність визначали за допомогою НСТ-тесту з використанням морфологічного підрахунку у мазках. З метою оцінки функціонального стану NO-синтазних реакцій в плазмі крові спектрофотометрично визначали вміст одного з кінцевих продуктів цих реакцій-цитруліну. Рівень прозапальних цитокінів-інтерлейкіну-6 (IL-6) та туморнекротичного фактору α (TNF- α) вимірювали методом імуноферментного аналізу.

Результати дослідження: на підставі отриманих даних можна зробити висновок, що у хворих з ХСН внаслідок ІХС та АГ розвивається ОС, в формуванні якого приймають участь як ліпідні, так і білкові компоненти крові. Вміст продуктів ПОЛ, ДК та МДА, виявились підвищеними в середньому на 27% та 43% відповідно, а рівень 1,4-ДФФ-на 35% в порівнянні з контролем. Ці зрушення супроводжувались достовірним зниженням активності каталази та СОД, відповідно на 23% та 31%. Про ІА свідчило достовірне збільшення рівня СРБ в сироватці крові, функціональної активності та резервної поглинальної здатності моноцитів, а також вміст прозапальних цитокінів -IL-6 та TNF- α , на 19% та 23% порівняно з контролем. Збільшення рівня цитруліну в плазмі крові на 41% свідчить про активацію NO-синтазних систем, найбільш вірогідно, за рахунок індукцйбельної ізоформи NO-синтази, представленої переважно в імунокомпетентних клітинах, які приймають участь у запальних реакціях. Багатофакторний кореляційний аналіз виявив взаємозв'язок між показниками досліджуваних систем. Так, активність СОД виявила негативний взаємозв'язок з МДА ($r=-0,37$, $p<0,05$), а активність каталази – з рівнем ДК ($r=-0,35$, $p<0,001$). Вміст цитруліну виявив зворотний кореляційний зв'язок з активністю каталази ($r=-0,31$, $p<0,05$) та СОД ($r=-0,39$, $p<0,02$). При цьому рівень цитруліну позитивно корелював з вмістом прозапальних цитокінів-з IL-6 ($r=0,31$, $p<0,01$) та TNF- α ($r=0,27$, $p<0,05$). Між активністю СОД та рівнем поглинальної здатності активності моноцитів встановлений негативний кореляційний взаємозв'язок ($r=-0,30$, $p<0,01$).

Висновки:

1. В формуванні ОС у хворих на ХСН на фоні ІХС та АГ приймають участь ліпідні, білкові компоненти, ферментні системи крові.
2. Розвиток ОС у хворих на серцево-судинну патологію супроводжується підвищенням функціональної активності NO-синтазних систем, на що вказує приріст вмісту кінцевого продукту цих ферментативних реакцій - цитруліну.
3. Виявлений взаємозв'язок між інтенсивністю ОС, активністю імунозапальних реакцій та функціональною активністю NO-синтазних систем.

ВПЛИВ ЕСТЕРІВ ТІОСУЛЬФОНАТІВ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ

Наталія Любас, Руслана Іскра, Віра Лубенець

Інститут біології тварин НААН, вул., Василя Стуса 38, Львів, 79034,
Україна
email: n_lubas@ukr.net

EFFECT OF THIOSULPHONATE ESTERS ON THE STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN RAT BLOOD

Nataliia Liubas, Ruslana Iskra, Vira Lubenets
Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

Thiosulfonates are sulfur-containing, biologically active compounds, synthetic analogues of natural bioregulators, in particular, the active substance of garlic (*Allium sativum* L.). The high index and wide range of biological activity of thiosulfoester esters, their stability and low toxicity allowed to offer these compounds as medicinal substances. It was found that the consumption by rats of oil solutions of esters of thiosulfonates – of ethylthiosulfonate (ETS), allylthiosulfonate (ATS), acetylalylthiosulfonate (AATS) causes an increase in the activity of catalase (CAT) and superoxid dismutase (SOD). The activity of glutathione peroxidase (GP) increases in the blood of rats that consumed ETS, while in the hemolysates of rats that consumed oil solutions of ATS, AATS - the activity of GP decreases.

Обґрунтування та мета. Естери тіосульфонатів – це синтезовані на кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» біологічно активні речовини, які є структурними аналогами фітонцидів часнику (*Allium sativum* L.). Високий індекс і широкий спектр антимікробної активності тіосульфоестерів, їх стабільність та низька токсичність дозволили запропонувати ці сполуки як лікарські субстанції. Сучасна концепція лікувальних та протекторних засобів спрямована на розробку методів, які б запобігали ушкодженню і загибелі всіх типів клітин. Важливою властивістю таких лікарських речовин та протекторів повинна бути наявність антиоксидантного ефекту. Тому, метою досліджень було з'ясувати вплив естерів тіосульфонатів - S-етил-4-амінобензентіосульфонату (ЕТС), S-аліл-4-амінобензентіосульфонату (АТС), S-ацетил-амінобензентіосульфонату (ААТС) на стан антиоксидантної системи крові лабораторних щурів.

Методи. Дослідження проводили на самцях-аналогах лабораторних щурів, розділених на 4 групи по 5 тварин у кожній: I група – контрольна, II, III, IV – дослідні. Тваринам контрольної групи одноразово на добу до корму додавали 1 см³ олії; дослідній групі I — 1 см³ олійного розчину ЕТС, з розрахунку 100 мг/кг маси тіла; дослідній групі II — 1 см³ олійного розчину АТС, з розрахунку 100 мг/кг маси тіла, дослідній групі III — 1 см³ олійного

розчину ААТС з розрахунку 100 мг/кг маси тіла. Дослід тривав 21 добу. Матеріалом для досліджень слугували гемолізати крові щурів, у яких визначали активність СОД, каталази, ГП. Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL, використовуючи метод one-way ANOVA.

Результати. Активність СОД вірогідно зростала у гемолізатах щурів II, III та IV дослідних груп у порівнянні з I групою на 50, 88 та 59% відповідно. Активність каталази збільшувалася у гемолізатах щурів II, III та IV дослідних груп у порівнянні з контрольною групою на 28, 57 та 41% відповідно. Активність ГП зростала в гемолізатах тварин II групи на 30%, а у гемолізатах щурів III та IV груп спостерігалось вірогідне зниження концентрації ГП щодо контрольної групи на 15 та 54% відповідно.

Висновок. У проведених дослідженнях встановлено, що споживання щурами олійних розчинів естерів тіосульфонатів - ЕТС, АТС, ААТС зумовлює збільшення активності каталази та супероксиддсмутаз в гемолізатах. Активність ГП зростає у гемолізатах крові щурів, які споживали ЕТС, тоді як у гемолізатах щурів, які споживали олійні розчини АТС, ААТС – активність ГП знижується, що може свідчити про пригнічення даними речовинами глутатіонової ланки антиоксидантного захисту. Однак необхідні подальші дослідження, щоб повністю прояснити молекулярний механізм даного процесу.

EVALUATION OF MICROVASCULATURE AND NECROTIC CHANGES OF THE PROSTATE TUMOR XENOGRAPTS BY DCE-US SUPPLEMENTED WITH THE CONVENTIONAL IMMUNOHISTOCHEMICAL METHOD

Nataliya Lutay

Imagene-iT AB, Medicon Village, Lund, Sweden,

nataliya.lutay@gmail.com

Background and aim. Dynamic contrast-enhanced ultrasound (DCE-US) is a sensitive non-invasive technique based on using microbubbles as the contrast agent in ultrasound imaging. DCE-US is a relatively new tool for evaluation of the cancer treatment, and it is still poorly investigated if this technique is applicable for monitoring of the tumor response at a very early stage after radiotherapy.

This study aimed to investigate whether functional parameters of DCE-US can reflect the changes in the tumors after the application of a single radiation dose in the murine model of human prostate cancer (CWR22). Another question addressed in the study concerned the correlation of these parameters with

microvessel density (MVD) and necrosis evaluated by the conventional immunohistochemical method.

Methods. Two different doses for the radiation treatment 7.5 Gy and 10 Gy were applied in two separate experiments generating four experimental groups: the treated tumors with 7.5 Gy and 10 Gy, respectively, and the corresponding untreated control groups. DCE-US was acquired before and after the treatment, where the post-treatment period was 24 h and 48 h for the 7.5 Gy and 10 Gy experiments, respectively. The images obtained from DCE-US were used for pixel-wise quantification employing the Brix pharmacokinetic model, which generates three constants: A ; k_{ep} ; and k_{el} . A reflects the intravascular and the extravascular extracellular space (EES) filling, k_{ep} is associated with the efficiency of diffusion from the EES to the plasma, and k_{el} is related to the elimination rate of the contrast agent from the plasma. Additionally, the product of $A \cdot k_{ep}$ (Ak_{ep}) reflects transcapillary contrast agent transport.

The immunohistochemical parameters such as MVD and necrosis rate were obtained by immunofluorescence labeling with rabbit polyclonal antibodies against human pan-endothelial marker CD31 (Abcam). The nuclei were counterstained with DAPI in the mounting medium. The captured images were used for the manual quantification of the histological parameters. Non-parametric statistics were applied for evaluation of the intergroup and longitudinal differences with significance level 0.05.

Results. Comparison of the pharmacokinetic parameters before and after the radiation treatment showed that Ak_{ep} significantly increased 48h after the treatment with 10 Gy ($p < 0.05$ according to Wilcoxon signed-rank test). In other groups, Ak_{ep} did not change significantly. CD31-positive MVD localized presumably in the intact tumor tissue and were not observed in the necrotic areas characterized by reduced fluorescence background and negative DAPI staining. MVD and necrosis significantly correlated with another pharmacokinetic parameter k_{el} ($r_{\tau} = 0.7$ respectively $r_{\tau} = -0.6$, $p < 0.05$ in the Kendall Tau b test) in the treated 10 Gy group but not in the corresponding control. Interestingly, MVD also correlated negatively with necrosis in the treated 10 Gy group but this association was not significant. Intergroup differences also showed no significant change in MVD and necrosis after the treatment.

Conclusion. The conventional immunohistochemical method for evaluation of MVD and necrosis did not reveal significant changes in the tumors when it is applied early after the radiation treatment. However, the parameter Ak_{ep} derived from DCE-US in the Brix pharmacokinetic model became significantly increased 48 h after 10 Gy single exposure, which may reflect elevated perfusion of the tumors. Another parameter k_{el} , a constant of the elimination rate of the microbubbles from the plasma, correlated positively with MVD 48 h after the exposure with 10 Gy dose. This observation may indicate that the wash-out of the microbubbles from the tumor became related to the

tumor vasculature after the radiation treatment. The negative correlation between k_{el} and necrosis, areas that do not contain any intact neoplastic cells and microvessels, is also in a good agreement with this finding. In conclusion, this study suggests that DCE-US may be considered as a suitable method in the monitoring of the radiation treatment of the tumor cancer which can be applied in the clinical practice along with the conventional histological techniques of the tumor assessment. In addition, the 24h period post-treatment seems too short to observe changes in the DCE-US derived parameters.

ВПЛИВ КАРНОЗИНУ НА АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИД-ПРОДУКУЮЧИХ ФЕРМЕНТІВ В ТКАНИНАХ ОКА ТВАРИН ПРИ УВЕЇТІ ТА ОФТАЛЬМОГІПЕРТЕНЗІЇ

Ірина Михейцева, Наталія Бондаренко, Сергій Коломійчук
ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова
НАМН України», Одеса, Україна
filatovbiochem@ukr.net

EFFECT OF CARNOSINE ON THE ACTIVITY OF SUPEROXIDE-PRODUCING ENZYMES IN ANIMAL EYE TISSUES IN UVEITIS AND OPHTHALMIC HYPERTENSION

Irina Micheiceva, Nataliya Bondarenko, Sergiy Kolomiichuk
Filatov Institute of the NAMS of Ukraine, Odessa, Ukraine

Oxidative stress is a pathogenetic factor of ophthalmic hypertension (OH). The use of carnosine in anterior uveitis on the background of OH reduced the activity of enzymes of the oxidative link of NADH oxidase and xanthine oxidase in the tissues of the uveal tract.

Визначення біохімічних механізмів впливу підвищеного офтальмотонусу на перебіг переднього увеїту (ПУ) є актуальним завданням експериментальної офтальмології. При запальних процесах інтенсифікація процесів вільно-радикального окислення на тлі виснаження антиоксидатної системи може сприяти посиленню оксидативного стресу в тканинах ока, особливо при офтальмогіпертензії (ОГ). Тому метою було вивчення впливу карнозину з антиоксидантними властивостями на активність ферментів оксидативної ланки в тканинах ока кролів при моделюванні переднього увеїту в умовах ОГ.

Методи. При моделюванні ОГ кролям в передню камеру очей одноразово вводили 0,1 мл 0,3% розчину карбомеру. Алергічний ПУ моделювали ін'єкцією розчину сивороточного альбуміну в передню камеру ока на тлі ОГ. В групі тварин при ОГ з увеїтом 5 % розчин карнозину інстилювали в кон'юнктивальну порожнину обох очей двічі на день

протягом 4 тижнів. Контрольна група – інтактні тварини. В тканинах увеального тракту (райдужка, циліарне тіло) ока кролів визначали активність НАДН-оксидази і ксантинооксидази.

Результати. Встановлено, що ОГ при передньому увеїті сприяла виразній активації НАДН-оксидази та особливо ксантинооксидази в тканинах увеального тракту ока порівняно з активністю ферментів в групі тварин тільки з ОГ або ПУ. Застосування інстиляцій карнозину сприяло вірогідному зниженню активності НАДН-оксидази на 19,4% та ксантинооксидази на 27,7% в тканинах увеального тракту при ПУ на тлі ОГ порівняно з групою тварин без препарату.

Висновки. Застосування карнозину при передньому увеїті на тлі ОГ суттєво зменшувало активність ферментів оксидативної ланки в тканинах увеального тракту.

ДЕСТРУКЦІЯ ЮКСТАМЕДУЛЯРНОГО АПАРАТУ НИРОК ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ДІАБЕТУ II ТИПУ

Євгеній Мурдасов, Світлана Кириченко, Галина Ушакова
Дніпровський національний університет ім. О. Гончара
mr.muradasu@gmail.com

DESTRUCTION OF THE JUCSTAMEDULAR APPARATUS OF RAT'S KIDNEY UNDER THE DEVELOPMENT OF TYPE II DIABETES

Yevhenii Murdasov, Svitlana Kyrychenko, Galyna Ushakova
Oles Honchar Dnipro National University

За розвитку цукрового діабету (ЦД) в організмі спостерігаються багаточисельні зміни нормального функціонування органів і систем. Причиною цього є гіперглікемічна інтоксикація, що призводить до підвищення окисного стресу з наступним порушенням анатомічної та функціональної цілісності компонентів організму. Нирки та їх складові не є виключенням. Окрім видільної функції, вони також є однією з головних ланок у ренін-ангіотензин-альдостероновій системі (РААС), оскільки юкстамедулярний апарат (ЮА) нирок є місцем синтезу реніну – важливого ферменту, що опосередковано (через перетворення ангіотензиногену) відповідає за йонно-водний обмін, вазоконстрикцію і артеріальний тиск. Порушення цілісності ЮА може призвести до ускладнення стану хворого на діабет. Метою роботи є виявлення порушення роботи РААС внаслідок деструкції юкстамедулярного апарату нирок щурів за умов розвитку ЦД II типу; для цього були проаналізовані зміни йонного обміну у гомогенатах нирок щурів за такими показниками, як концентрація йонів Хлору та Калію. Для корекції наслідків цукрового діабету, зниження рівню окисного

пошкодження клітин і відновлення функцій органу був обраний мелатонін як антиоксидант.

Дослідження проводили на статевозрілих щурах самцях лінії Вістар відповідно до етичних норм роботи з лабораторними тваринами. Тварин було поділено на 3 групи ($n = 6$): 1 – контрольна група, щури віком 14-16 тижнів і масою 180-220 г.; 2 – щури з експериментальним стрептозотоцин-індукованим ЦД2 (ЕЦД2), віком і масою ідентичні до 1 групи; 3 – щури з ЕЦД2, яким вводився мелатонін у дозі 10 мг/кг протягом останніх 7 діб експерименту. Зміни йонного обміну визначали за показниками вмісту Калію та Хлору за допомогою відповідних стандартних тест-наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна). Статистичну обробку даних проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA, вірогідними вважали дані за умов $P < 0,05$.

За результатами дослідження можна спостерігати підвищення концентрації йонів Калію і Хлору у гомогенатах нирок щурів за ЕЦД2 по відношенню до контролю на 58,1% і 57,3% відповідно. За умов введення мелатоніну досліджуванні показники йонного обміну знизились по відношенню до показників другої групи на 29,9% для Калію і на 31,2% для Хлору.

Хоча за початку ЦД спостерігається лише активація РААС, довготривала гіперглікемія призводить в подальшому до руйнування складових нирок і нефропатії в цілому, в тому числі, юкстамедулярного апарату. Зменшення синтезу реніну призводить до стану гіпоренінового гіпоальдостеронізму, який пояснює гіперкаліємію. Внаслідок зменшеної секреції K^+ порушується виведення йонів NH_4^+ у збірних трубках нирок. Це призводить до метаболічного ацидозу, найчастіше, гіперхлоремічного метаболічного ацидозу. Таким чином, у нирках хворих щурів одночасно розвиваються гіперкаліємія та гіперхлоремія. Мелатонін нормалізував рівні концентрації йонів внаслідок своїх антиоксидантних, протизапальних і протидіабетичних властивостей, сприявши зменшенню рівня окисного пошкодження юкстамедулярного апарату та нормалізації РААС.

Отримані результати вказують на те, що хронізація цукрового діабету може провокувати деструкцію юкстамедулярного апарату нирок, зменшення синтезу реніну та погіршення стану хворого.

GLYCOSYLATION OF BLOOD LYMPHOCYTES IN INFLAMMATORY PROCESSES

Olha Netronina, Hanna Peleshenko, Hanna Maslak

Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine, Dnipro,
Ukraine

netronina.olga@gmail.com

Background and aim. Inflammatory processes are one of the most difficult problems of clinical medicine both in Ukraine and around the world due to their high prevalence, staged course and the development of severe complications. The pathogenesis of many diseases includes abnormal glycosylation of glycoproteins. Most glycans are located on the outermost surfaces of cells and are extremely diverse. In addition to the formation of important structural features, carbohydrate components of glycoconjugates modulate or mediate a wide range of functions in physiological and pathophysiological conditions. The aim of the study was to establish changes in the glycosylation of cellular glycoproteins in inflammatory processes.

Methods. The object of the study were blood lymphocytes of patients with inflammatory diseases - (n = 8) aged 58-66 years. The control group consisted of healthy volunteers (n = 10) aged 55 to 65 years. Isolation of lymphocytes from heparinized blood (20-25 units of heparin per 1 ml of blood) was done by a modified method of A. Boyum (1976), which is based on the sedimentation of cells in a density gradient of Ficoll-Urografin ($\rho=1,077\text{g/ml}$). Glycotope exposure was determined by flow cytometry using SNA lectin (Lectinotest, Ukraine) conjugated with fluorescein isothiocyanate - FITC.

Results. Lectin SNA (*Sambucus nigra*) was used to study the terminal residues of N-acetylneuraminic acid, which is affine to $\alpha(2\rightarrow6)$ -bonds of N-glycans. The study found that the number of lymphocytes with a positive reaction to SNA lectin decreased by 5 times compared to normal.

Conclusions. Our results and literature data suggest that the development of the inflammatory process causes a change in the degree of glycosylation of lymphocyte membranes and requires further study using a different spectrum of lectins.

INHIBITORY EFFECTS OF METHYLENE BISPHOSPHONIC ACID ON METHABOLIC ACTIVITY OF J774 AND RAW264.7 CELL LINES

Pasichna E.P., Labudzynski D.O., Veliky M.M.

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

ellapasich@gmail.com

The state of the problem. Bisphosphonates (BPs) are synthetic compounds, which are stable analogues of inorganic pyrophosphate. BPs possess antiresorptive and immunomodulatory properties. This gives a possibility to use them for prevention of osteoporosis and treatment of a number of diseases, which cause enhancement of the processes of resorption of bone tissues. These compounds are also applied to reduce bone metastasis. Traditionally BPs are divided to two large groups, that are different in chemical structure and mechanism of effect on the cells of bone tissues. The first group involves BPs, the structure of which contains no nitrogen atoms (etidronate, clodronate). As assumed, the mechanism of their effect is foremost formation of the ATP analogues, which are not able to hydrolyze. They inhibit numerous ATP-dependent processes in the cell. As opposed to this type of BPs, the main mechanism of the action of nitrogen-containing BPs is the specific inhibition of enzymes during biosynthesis of cholesterol farnesylpyrophosphatesynthase and geranylgeranyl pyrophosphatesynthase. It is a critical link for posttranslational modification (prenylation) of small signal G-proteins that are important in the specific functions of osteoclasts. The most effective representative of this BPs group is zoledronic acid. The structure of methylene bisphosphonic acid (MBPA) contains 2 hydrogen atoms as R₁ and R₂. MBPA has a wide range of biologic effect, in part, modulatory action on the bone tissues and immune system. However, the problem of exact mechanisms of MBPA effect on bone tissues are not solved.

The aim of the work was to study the ability of MBPA to suppress the functional activity and viability of monocyte / macrophage cells of the J774A1 and RAW264.7 lines, which are precursors of osteoclasts, and to suppress the activity of mevalonate pathway of cholesterol biosynthesis in these cells, as compared to zoledronic acid.

Material and Methods. Cells of the J774A1 lines were cultured 24-48 h with bisphosphonates in RPMI-1640 medium (with 1 mM pyruvate and 10% FBS) and RAW264.7 cells were cultured similarly in DMEM medium (4.5 g/L glucose). The inhibitory effect of the MBPA was compared with the action of the zoledronic acid at concentration of 0.1 mM. Apoptotic RAW264.7 cell death was evaluated by the accumulation of Sytox Green postvital dye added to the environment. The apoptotic activity was investigated and visualized with the

help of the multifunctional IncuCyte ZOOMinstrument. Metabolic activity of J774A1 cells was studied by MTT-test. The activity of mevalonate pathway of cholesterol biosynthesis was investigated by measuring the radioactivity of cholesterol and farnesyl- and geranylpyrophosphates after 10 h incubation the J774A1 cells with the BP and labeled precursor ^{14}C -acetate. Cholesterol and isoprenoid fractions were obtained by two-stage extraction and TLC.

Results and discussion The experiment involving J774A1 cells has been performed by means of MTT test. As shown, the ability of MBPA to decrease the percentage of viable cells in culture is slightly lower compared with zoledronic acid. After 24 h of incubation, the percentage of inhibition of metabolic activity was 11,6% and 32% respectively. After 48 h these values were 37% and 60% respectively. Accumulation of Sytox Green on RAW264.7 cells was studied. As found, the proapoptotic effect of MBPA on these cells was comparable to the effect of the reference drug (zoledronate), when the MBPA concentration was 0,1 mM. At higher concentration (1 mM), the MBPA effect was stronger comparing with zoledronate. Activity of incorporation of radioactive precursor into mevalonate pathway of cholesterol biosynthesis in J774A1 cells was investigated. The results of these studies unexpectedly showed that the inhibitory effect of MBPA is almost indistinguishable from the action of zoledronic acid. This acid is currently considered as the most effective inhibitor of farnesylpyrophosphatesynthase from the group of bisphosphonates. Under the experimental conditions, the inhibitory effects of MBPA and zoledronic acid on the intensity of incorporation of labeled precursor ^{14}C -acetate to the cholesterol fraction were 77% та 61% respectively. In the case of isoprenoid fraction (farnesyl pyrophosphate + geranyl pyrophosphate) the inhibitory effects were 55% and 59% respectively.

Conclusion. It was shown that MBPA demonstrates rather strong inhibitory effect on metabolic processes in the J774A1 and RAW264.7 osteoclast progenitor cells. As follows from the obtained results, the mechanism of inhibitory effect on cell viability can be probably caused by inhibition the activity of enzymes of the mevalonate pathway of cholesterol biosynthesis.

ENZYMES CATABOLISM ACTIVITY OF PURINE NUCLEOTIDE IN RAT LIVER WITHIN THE CONDITIONS OF INTAKE BY SACCHAROBIOSE AND NUTRITIOUS PROTEINS

Andriana Plytus, Oksana Voloshchuk, Galyna Kopilchuk

Institute of Biology, Chemistry and Bioresources, The CNU, Chernivtsi,
Ukraine

andriana.plytus@gmail.com

Background and aim. Recently, the issue of the impact of deficiency or excess of basic nutrients on metabolic processes in the body has been actively investigating. It is known that nutrient imbalances cause disruption of a variety of metabolic processes, including cell energy supply processes, in particular. The most important indicators of the energy state system are the quantity of adenyl nucleotides. Modification of their cell content may be related to a violation of synthesis or an increase in catabolism. The key enzymes involved in purine degradation processes are xanthine oxidase (EC 1.17.3.2), which catalyzes the oxidation of hypoxanthine to xanthine and uric acid, and AMP desaminase (EC 3.5.4.6), which controls the level of specific intracellular modulators, in particular, AMP, adenosine and inosine.

Therefore, the purpose of this work was to investigate the activity of AMP-deaminase and xanthine oxidase in the cytosolic fraction of rat liver under conditions of different dietary supply of sucrose and dietary protein.

Methods. The activity of purine metabolism enzymes investigations were performed on four groups of animals: K – animals that received a complete diet; LPD – animals that were on a low protein diet; HSD – animals kept on a high-sugar diet; LPD/HSD – animals that were on a low protein/high sugar diet. The enzymatic activity of AMP-desaminase and xanthine oxidase was determined spectrophotometrically.

Results. The results of the investigation showed that AMP-deaminase activity did not change significantly in the group of animals kept on a low protein diet. The maintenance of AMP-deaminase activity at the control level can be considered as a compensatory reaction aimed at stabilizing the cell energy charge, in light of the fact of the experimental conditions, the ATP pool is exhausted. In the meantime, in the liver of rats under conditions of protein-deficient diet there is a slight decrease in xanthine oxidase activity compared to the control.

It was found that in the liver of animals kept on a high-sucrose diet, AMP-deaminase activity is significantly reduced, when the content of AMP increasing almost twice, while maintaining the level of control of ATP and ADP. AMP is known as an activator of AMP-activated protein kinase (AMPK). AMPK has a key role in maintaining the balance between anabolic and catabolic programs for

cellular homeostasis in response to metabolic stress. AMPK is a metabolic switch sensitive to high AMP/ATP ratios and functions to protect the energy state by inhibiting ATP-consuming processes while stimulating ATP-producing processes. At the same time, this group of animals has an increase of xanthine oxidase activity in 1.3 times compared to the control, which will enhance the ROS toxic effects on cells and promote the development of inflammatory processes in liver tissue.

The most significant changes in the activity of the studied enzymes were observed in animals treated with low-protein/high-sugar diet. A 1.4-fold decrease in AMP-deaminase activity and a 1.6-fold increase in xanthine oxidase activity were detected. At the same time under the conditions of low-protein/high-sucrose diet the pool of all adenylic nucleotides is depleted. The established fact indicates that there is a deepening of the imbalance of the energy supply system of rats when the diet is unbalanced.

Conclusions. Distortion of nutritious protein and sucrose content is critical for the imbalance of cell energy supply, as it is evidenced by a significant decrease of ATP, ADP and AMP in liver. Changes in the activity of purine nucleotide catabolism enzymes can be considered as one of the mechanisms of regulation of the cell's energy functions. The obtained results open the prospects for the development of a strategy for correction of energy exchange disturbance in the conditions of nutrient imbalance.

CHANGES OF LIPID PROFILE AND LIPID PEROXIDATION PARAMETERS DEPEND ON TYPE AND DURATION OF METABOLIC SYNDROME INDUCTION

Tetiana Petryn, Mariia Nagalievskia, Nataliia Sybirna

Department of Biochemistry, Faculty of Biology, Ivan Franko National
University of Lviv, Ukraine

E-mail: eurusvermeer@gmail.com

The wide geographical prevalence of metabolic syndrome (MetS), as well as the tendency to increase the number of patients with this disease emphasize the importance of studying this pathological condition. Today it is still remains unclear whether the key metabolic disorders of MetS are individual pathologies, or all together are manifestations of a common pathological mechanism. Despite the great attention to determining various aspects of MetS, the problem of its pathogenetic basis has not yet been finally resolved. Given this, it is advisable to create an animal model of this pathological condition.

The aim of the study was to evaluate changes in the lipid profile and lipid peroxidation depend on different approaches to induction of metabolic syndrome.

The experimental animals were divided into three groups: control animals, animals that were on a high-carbohydrate diet for 28 and 42 days (MetS_{carb}²⁸ and MetS_{carb}⁴²) and a high-lipid diet (MetS_{lip}²⁸ and MetS_{lip}⁴²).

In animals that was on a high-lipid diet were observed increase of cholesterol (32% for MetS_{lip}²⁸ and 75% for MetS_{lip}⁴²), triglycerides (45% for MetS_{lip}²⁸ and 100% for MetS_{lip}⁴²), and LDL (37% for MetS_{lip}²⁸ and 52 % for MetS_{lip}⁴²) and reduction of HDL content (by 31% for MetS_{lip}²⁸ and 18% for MetS_{lip}⁴²). In contrast, excessive carbohydrate intake leads to an increase in cholesterol only with longer carbohydrate intake duration (25% for MetS_{carb}⁴²), an increase in triglycerides (43% for MetS_{carb}²⁸ and 117% for MetS_{carb}⁴²) and a decrease in HDL (26% for MetS_{carb}²⁸ and 29% for MetS_{carb}⁴²).

Excessive consumption of lipids and carbohydrates leads not only to the quantitative redistribution of various forms of lipids, but also to an increase in their oxidative damage, as indicated by an increase in TBARS (42% for MetS_{carb}⁴² and 17% for MetS_{lip}⁴²).

One of the enzymes that inhibits the lipid peroxidation of membranes and LDL is paraoxonase-1 (PON-1), which is associated with HDL and is responsible for their antioxidant activity. It was found that the induction of MetS by high-lipid diet is not accompanied by significant changes in the activity of PON-1, instead, high-carbohydrate diet leads to a decrease in the activity of this enzyme (25% for MetS_{carb}⁴²).

A comparative analysis of selected approaches to the induction of metabolic syndrome showed that both high-lipid and high-carbohydrate diets lead to significant changes in the lipid profile of animal blood plasma, as well as induce enhanced lipid peroxidation. In addition, a high-carbohydrate diet cause the reduction of paraoxonase activity. More pronounced changes in the studied indicators were found when the animals were on a high-carbohydrate diet for 42 days.

The use of such model can help to identify the biochemical and molecular changes that accompany the development of MetS and can allow to estimate the effectiveness of new therapeutic approaches to the treatment of MetS.

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПЕЧІНКИ

Олена Скорик

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара,
Дніпро, Україна

l_d_skorik@ukr.net

CHANGES IN BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD IN LIVER DISEASES

Olena Skorik

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

One of the important tasks of doctors today is the timely detection and correct diagnosis of liver disease, so it is advisable to in-depth study of biochemical markers of liver disease. The change in the activity of gamma-glutamyltranspeptidase (GGT), alkaline phosphatase (LF), lipase and the content of total and direct bilirubin in the blood of patients with hepatitis C, cholecystitis, liver cirrhosis was studied. There was a significant increase in these indicators in patients with cholecystitis and liver cirrhosis. According to the data obtained, the greatest liver damage, cytolysis of parenchymal cells was detected in cirrhosis.

Сучасні умови життя пов'язані з негативним впливом на печінку та організм людини в цілому хімічно шкідливих речовин (ксенобіотиків), які достатньо розповсюджені як на підприємствах, так і в побуті, нераціонального харчування, шкідливих звичок, наслідків інфекцій, що у сукупності негативно впливає на функціональний стан гепатоцитів. Одним з важливих завдань лікарів на сьогодні є своєчасне виявлення та правильне діагностування хвороб печінки, які досить часто мають субклінічний перебіг. Труднощі виникають не тільки в тому, що пацієнти не надають значення симптоматичним виявам хвороби, але і в недоліках діагностичних засобів. Лікар повинен виявити поєднання низки етіопатогенетичних чинників: хронічні вірусні інфекції HBV і HCV, зловживання алкоголем, ожиріння, цукровий діабет II типу, дисліпідемія та біохімічні показники, які можуть слугувати маркерами розвитку захворювання та погіршення стану пацієнтів. Тому доцільним є поглиблене вивчення біохімічних маркерів захворювань печінки та можливих загальних механізмів формування порушень метаболічного гомеостазу, які мають місце при даній патології.

Метою роботи було дослідити зміну активності ферментів гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ), лужної фосфатази (ЛФ), ліпази та вміст загального та прямого білірубину у крові при захворюванні на гепатит С, холецистит, цироз печінки та виявити найбільш ефективні для діагностики біохімічні показники крові.

Робота виконана на базі КЗ «Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.Мечникова». Пацієнтів було поділено на 4 групи: контрольну групу, яку склали практично здорові люди; група людей із захворюванням на гепатит С; група людей із захворюванням на холецистит та група із захворюванням на цироз печінки. У групах було по 6 чоловік віком від 30 до 45 років. Визначали в крові активність ферментів гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ), лужної фосфатази (ЛФ), ліпази та вміст загального та прямого білірубіну.

Показано, що активність лужної фосфатази у крові хворих на холециститі зростає майже у 2 рази порівняно зі здоровими людьми. При цирозі – у 1,5 рази. При гепатиті С активність ЛФ знаходиться в межах норми (до 77 Од/л). Виявлено, що активність ГГТ у крові пацієнтів при холециститі збільшується у 6,5 разів, а при цирозі ще більше – майже 8,5 разів порівняно з контрольною групою. При цьому, активність ГГТ при Гепатиті С залишається у межах норми (до 61 Од/л). ГГТ є маркером дисфункції гепатоцитів. Фермент міститься в лізосомах, мембранах і цитоплазмі клітини, причому мембранна локалізація ГГТ характерна для клітин з високою секреторною, екскреторної або реабсорбуючою здатністю. Збільшення значень ГГТ в сироватці - чутливий показник при захворюваннях гепатобіліарної системи (маркер холестазу). При всіх формах захворювань печінки рівень ГГТ в сироватці зростає.

Білірубін є одним з найтоксичіших ендогенних метаболітів. Зростання вмісту загального білірубіну у крові хворих на холецистит та цироз становить 4,5 та 5,5 разів відповідно порівняння з контрольною групою. Збільшення концентрації даного показника є також свідченням розвитку ендогенної інтоксикації. Такі рівні загального білірубіну в крові обумовлені обтурацією позапечінкових жовчних шляхів, що спричиняє блок відтоку жовчі у кишечник, жовчну гіпертензію та холемію, стає причиною розвитку неспецифічного синдрому ендогенної інтоксикації здатного до прогресування. При гепатиті С вміст даного показнику залишається у межах норми (до 21 мкмоль/л).

Показано, що при холециститі вміст прямого білірубіну у крові хворих збільшується у 14 разів у порівнянні зі здоровими людьми. При цирозі – майже у 15,5 разів. А при гепатиті С вміст білірубіну прямого коливається у межах 3,7 мкмоль/л (при нормі до 5,4 мкмоль/л). Отримані дані можуть бути свідченням про те, що у пацієнтів з холециститом перебіг захворювання супроводжується запальним та гнійно-септичним ускладненням в гепатобіліарній зоні. Наприклад за даними деяких авторів у хворих на гострий калькульозний холецистит (ГКХ) ускладнений гострим холангітом рівень білірубіну у крові був вищий у 4,9 разів ніж у здорових людей, а у хворих на ГКХ, ускладнений гострим холангітом та місцевим перитонітом загальний білірубін був вищий у 21,4 рази у

порівнянні зі здоровими людьми. Вважають, що при концентрації вище 30 ммоль/л має місце мембранотоксичний ефект.

За отриманими даними найбільше ураження печінки, цитоліз паренхіматозних клітин виявлене при цирозі. Дані показники можна використовувати для більш точної діагностики, також у якості прогностичних критеріїв прогресування хвороби та ефективності лікування.

ОСОБЛИВОСТІ ВИГОТОВЛЕННЯ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗОВАНОГО МАТРИКСУ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ У КАРДІОХІРУРГІЇ

**Анатолій Сокол¹, Дмитро Греков¹, Олександр Галкін², Гліб Ємець¹,
Наталія Щоткіна¹, Ілля Ємець¹**

¹ДУ "Науково - практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії" МОЗ України, Київ, Україна

²Національний технічний університет України

"Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського", Київ, Україна
healthy044@gmail.com

FEATURES OF MANUFACTURE OF DECELLULARIZED SCAFFOLD FOR USE IN CARDIAC SURGERY

Anatoliy Sokol¹, Dmytro Grekov¹, Alexandr Galkin², Glib Yemets¹, Nataliia Shchotkina¹, Iliia Yemets¹

¹ PI «Scientific – practical medical center for pediatric cardiology and cardio surgery»
Ministry of health of Ukraine

²National Technical University of Ukraine “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”

Decellularized extracellular matrix is a promising biomaterial for cardiovascular tissue repair. As our research has shown, not all methods of decellularization can be used to manufacturing biological cardioimplants. Based on the results of this work treatment of bovine pericard 0.1% SDS is the most gentle. Samples of this group where shown good strength level, high ability to recellularisation and low cytotoxicity.

Захворювання серцево – судинної системи, як і раніше, займають одне з перших місць серед смертності населення. Тому щорічно на лікування даної патології витрачаються мільярди у всьому світі. Говорячи про хірургічне лікування таких захворювань слід відзначити, що в сучасній кардіохірургії, як вроджених так і набутих захворювань серця, існує багато реконструктивних методів, суть яких полягає у відновленні цілісності камер серця, його стінок або клапанів. Досить часто для цього потрібне використання різних пластичних матеріалів, найбільш оптимальними з яких є біологічні імпланти. Привабливість біопротезів полягає в їхній природній біологічній структурі (колаген, еластин), низькій

тромбогенності, еластичних властивостях, близьких до характеристик природних тканин. В свою чергу розвиток реконструктивно – відновлювальної медицини тісно пов'язаний з розробкою і впровадженням у клінічну практику біологічних матеріалів із ксенотканини. Однією з найпоширеніших серед таких тканини є перикард. Децелюляризований позаклітинний матрикс (ДПМ) виготовлений із ксеноперикарду є перспективним біоматеріалом для відновлення серцево-судинної тканини, оскільки структура колаген – еластинового компонентів каркасу задовільно зберігається, а антигенні молекули належним чином елімінуються і тим самим знижується антигенність такого матеріалу. На сьогодні, розроблено досить багато методів децелюляризації тканин та органів. Проте, як показали наші дослідження, не всі способи видалення клітин із тканини (децелюляризації) можуть використовуватися для створення біологічних кардіоімплантів.

Метою нашої роботи був підбір оптимального методу децелюляризації перикарду великої рогатої худоби для отримання матриксу для кардіохірургії. В процесі дослідження нами вивчалися біологічні та механічні властивості ксенографтів, які виготовляли шляхом децелюляризації ксенологічного перикарду. Для процесингу використовували різні протоколи застосування як іонних (SDS) так і неіонних (Triton X-100) детергентів, ферментів (Trypsin), а також хелатуючих агентів (ЕДТА). Результати досліджень показали пряму залежність біологічних властивостей від виду детергенту та протоколу процесингу (час експозиції, температурний режим, компонування речовин та ін.). Таким чином, 0,1% SDS виявився найбільш щадним по відношенню до тканини перикарду. Так, показники міцності перикарду групи, де використовували 0,1% SDS були найвищими в порівнянні із зразками, де використовувалися інші детергенти та способи децелюляризації. Також, зразки цієї групи показали досить низьку ступінь цитотоксичності та високу здатність даного матриксу до повторного заселення клітинами фібробластів (рецелюляризацію). В свою чергу використання того ж самого детергента (SDS), але в іншій концентрації (1%) та температурному режимі (t 24°C) мали незворотній та дегенеруючий ефект на тканину перикарду. Тому, саме в цій групі спостерігалися найнижчі показники максимальної сили розтягнення та міцності матеріалу. Що було результатом порушення структури колагенових та еластинових волокон в досліджуваних зразках. Всі інші способи децелюляризації, які нами досліджувалися показали задовільні результати біологічних властивостей тканини, проте вони мали певні відмінності та поступалися показникам нативного перикарду. Таким чином можна зробити висновок, що перикард великої рогатої худоби децелюляризований з використанням 0,1% SDS

може бути перспективним та безпечним матеріалом для використання у кардіохірургії.

ШЛЯХИ ТОКСИЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ЛІКАРСЬКИМИ ПРЕПАРАТАМИ

Людмила Ульдякова, Дарина Полянська, Ольга Дьомшина
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро,
Україна

domshyna_olh@fbem.dnulive.dp.ua

WAYS OF TOXIC LIVER DAMAGE BY DRUGS

Lyudmyla Uldyakova, Daryna Polyanska, Olga Dyomshyna
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Drug-induced liver injuries and secondary hepatic injuries continue to be the main focus of drug safety research. Many authors support the notion that drugs need more regulation as reports of related liver injuries increase.

Однією з найпоширеніших проблем фармакології та медицини є гепатотоксичність високоефективних лікарських препаратів (Andrade et al., 2005; Andrade et al., 2007; Paniagua and Amariles, 2017). Встановлення фактів прояву даного типу токсичності слугує рекомендацією до відміни застосування певних лікарських препаратів. До таких відносяться, наприклад, троглітазон, бромфенак, тровафлоксацин, ебротидин, німесулід, нефазодон, ксимелагатран, люмікококсиб, пемолін та толкапон, які були виведені з ринку (Gunawan and Kaplowitz, 2004; Ibáñez et al., 2002; Lucena et al., 2008; Onakpoya et al., 2016; Paniagua and Amariles, 2017).

За даними (Sgro et al., 2002; Larson et al., 2005) кількість хворих на токсичний гепатит, причиною якого є гостра печінкова недостатність, значно збільшилася та перевищила захворюваність на вірусні гепатити. Це залишається серйозною проблемою для лікарів при призначенні терапії, оскільки це може спровокувати всі форми гострого або хронічного захворювання печінки (Abboud and Kaplowitz, 2007).

Гепатотоксичність, яку виявляють лікарські препарати, поділяють на два типи. Перший тип: внутрішня реакція печінки. Вона залежить від дози та передбачувана. Другий тип: ідіосинкратична реакція, яка не залежить від дози та непередбачувана (Paniagua and Amariles, 2017). Окрім того, ідіосинкратична реакція може виявлятися: імунною реакцією, яка характеризується гіперчутливістю до лікарських препаратів і метаболічною - зміною напрямку та інтенсивності метаболізму ксенобіотиків. Основними печінковими клітинами, які приймають участь в метаболізмі та екскреції лікарських препаратів і їхніх метаболітів є

гепатоцити. Однак, холангіоцити, клітини Купфера, клітини протоків та ендотеліальних клітин також відіграють роль у формуванні гепатотоксичності хімічних речовин (Grattagliano et al., 2009).

Загально визнаним і широко використовуваним методом оцінки гепатотоксичності будь-якого лікарського препарату є RUCAM (Roussel Uclaf Causality Assessment Method, Метод Оцінки Причинності Русселя Уклафа) (Danan and Teschke, 2015; Paniagua and Amariles, 2017; Shehu et al., 2017). За даними RUCAM ураження печінки вважається, якщо хоча б один з основних печінкових ферментів, таких як аланінамінотрансфераза (АлАТ), аспартатамінотрансфераза (АсАТ), лужна фосфатаза (ЛФ) та загальний білірубін, збільшується у два рази порівняно з верхньою межею норми. Однак, три основні типи токсичного ураження печінки мають певні відмінності. Так, при гепатоцелюлярному ураженні відбувається підвищення активності АлАТ вдвічі або спостерігається співвідношення АлАТ/ЛФ більшим або рівним п'яти. При холестатичному ураженні відбувається пошкодження холангіоцитів із підвищенням вдвічі активності ЛФ або спостерігається співвідношення АлАТ/ЛФ більшим ніж у два рази. При змішаному ураженні спостерігається збільшення більш ніж у два рази активності АлАТ та ЛФ або співвідношення АлАТ/ЛФ знаходиться між двома та п'ятьма (Sistanizad and Peterson, 2013).

Порушення, які відбуваються на молекулярному рівні призводять до змін у функціонуванні субклітинних структур. До клітинних органел, які найбільш чутливі до змін на молекулярному рівні є мітохондрії. Внаслідок суттєвих метаболічних змін у мітохондріях розвиваються мітохондріальні дисфункції. Будь-які дисфункції в мітохондріях провокують підвищення проникності мітохондріальної мембрани, що є причиною виснаження АТФ, апоптозу або некрозу. Порушення окиснення ліпідів призводить до стеатозу (надлишкове накопичення жиру) (Gu and Manautou, 2012). До основних маркерів окисного стресу в мітохондріях, який призводить до дисфункцій, відносять підвищення концентрації дисульфиду глутатіону та утворення пероксинітриду (Saito et al., 2010; Win et al., 2011).

Окрім мітохондріальних дисфункцій, токсичні метаболіти лікарських препаратів можуть викликати запальну імунну відповідь. Пов'язана з утворенням нових антигенів, що провокує формування ідіосинкратичної гепатотоксичності. Відбувається активація цитокінів, в першу чергу, інтерлейкіну ІІ-1 α , продуцентами якого є клітини Купфера (Zhang et al., 2017).

Незважаючи на досить значні успіхи в дослідженні шляхів і механізмів гепатотоксичності лікарських препаратів і визначення їхньої ролі в формуванні ураження печінки, пошук більш інформативних діагностичних показників досі триває.

ON SOME REGULARITIES OF INTER-PROTEIN RECOGNITION AND THE COMPLICATIONS AND OPPORTUNITIES THEY CREATE IN CORONAVIRUSES PROBLEM

Voroshylova N.M.¹, Deeva Yu.V.², Verevka S.V.¹

¹ SE “Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

² Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

verevka.biochem@gmail.com

Intermolecular recognition is the basis for the regulation of innumerable physiological processes. The formation of complementary sites on the surface of reacting molecules occurs at strictly directed stages of metabolism and provides a quick and high-selective interaction with a functional partner. Violation of this requirement leads to the development of a wide range of complications. One of them is due to the formation of surface groups that do not correspond to the rules adopted in this particular biological system. The presence of such a group turns a molecule into an “stranger”, which is subjected to elimination by the body’s clearance systems. In such a context, it’s worth of attention to consider the cognitive features of the functioning of coronaviruses (CVs), in particular of SARS-CoV-2, which caused the ongoing COVID-19 pandemic.

As is well-known, CVs are released from the breeder cell as an immature, non-infectious form. Their activation and ability to be bound by receptors of the target cell is due to proteolytic cleavage in the surface protein projections (peplomers) that leads to the exposure of the hidden sites of the S1 subunits. These sites are recognized and bound by cellular receptors with subsequent absorption of the virus by the cell. In other words, there is a typical elimination of the “stranger” followed by its lysosomal cleavage. However, in this case this cleavage is accompanied with the release of the virus RNA into the intracellular space with all the ensuing consequences.

For obvious reasons, the question of the possibility of violation of the considered processes is not devoid of interest. As of today, there is no solution of this issue. There are several reasons for this state of affair. First of all, the ability of CVs to penetrate into B-cells, monocytes, and macrophages with subsequent replication should be noted. Regardless of the degree of infectivity of the newly formed viruses, a significant load is created on the corresponding cellular systems. Massive cell death causes a cytokine storm, that is typical for CVs-conditioned diseases. Due to susceptibility to mutations, the antigenic determinants of S1-proteins of peplomers are diverse, that complicates the formation of the effective immune response. Moreover, there is a strong evidence for susceptibility of CVs to antibody-dependent enhancement. The latter phenomenon has been described for a variety of viral infections and is

caused by IgG-malfunctioning. Several mechanisms are proposed for the explanation of the Ig-mediated stimulating of the viruses' delivery into cells, with the subsequent acceleration of replication and complication of disease. Because of these both the immunized persons and the recovered from the disease ones are much more vulnerable to infection and are susceptible to disease in a much more severe form. For all the reasons stated above, even the principal opportunity of creating an effective and safe vaccine for CVs-caused diseases seems to be quite controversial.

On the other hand, we have to deserve the attention to that part of S1-sunit which provides the interactions of the viruses with cellular receptors and immunoglobulins. This part is represented by three β -stacked planes that are hidden in mature form of viruses and became exposed on proteolytic activation. Such structures are capable to the binding of soluble proteins and to rearranging them in own β -stacked likeness. This may complicate significantly the formation of protective reaction. At the same time, such structures are able for high-selective binding of structurally complementary synthetic molecules. The typical example of such compounds is Congo red. It is a vital dye that has long been used for intravenous administration at clinical test for amyloidosis. Neither the dye itself nor β -stacked structures that bound it cause an immune response. There are a lot of attempts to block the development of CNS amyloidosis by incorporation of artificial substances into the forming protein aggregate. However for now such attempts are successful at *in vitro* level only. But won't the binding of Congo red or a similar substance lead to transformation of a formidable coronaviruses into a harmless nano-particles? Such assumptions are based on the cognitive regularities of inter-protein recognition and seems to be quite promising.

ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У ГІПОКАМПИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІШЕМІЇ

Дар'я Щепотьєва¹, Ганна Локтіонова¹, Олександр Медянцев¹,
Володимир Жилюк², Галина Ушакова¹

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро,
Україна;

²Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства
охорони здоров'я України», Дніпро, Україна

darya.shepotyeva@gmail.com

OXIDATIVE STRESS IN THE HIPPOCAMPUS OF RATS UNDER ISCHEMIA

Daria Shchepotieva, Hanna Loktionova, Alexandr Mediantsev, Volodymyr Zhilyuk²,
Galyna Ushakova

¹Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

²State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine",
Dnipro, Ukraine

Cerebral vascular diseases belong to the group of socially significant due to the widespread prevalence of cerebral circulatory disorders, the constant increase in morbidity, high mortality and disability of patients (Chukanova EI, 2017). The action of cytoflavin is associated with the energetic effect of the drug in relation to nervous tissue when it's damaged, as well as its significant antihypoxic effect (Kazarinova MV, 2017). The study was to investigate the effect of cytoflavin on the antioxidant system of the brain and its aerobic-anaerobic balance under conditions of carotid artery ischemia.

Обґрунтування та мета. Церебральні судинні захворювання відносяться до групи соціально значущих внаслідок широкого поширення порушень мозкового кровообігу, постійного зростання захворюваності, високого відсотка летальності та інвалідизації пацієнтів. Це робить вельми актуальною проблему вивчення цих захворювань (Чуканова Є.І., 2017). Цитофлавін – це комплекс з двох вітамінів (В₂ і РР), янтарної кислоти та інозину (рибоксину). Дія цитофлавіну пов'язана з енерготропним ефектом препарату по відношенню до нервової тканини при її пошкодженні, а також його значній антигіпоксичній дії (Казаринова М.В., 2017). Метою роботи було дослідити вплив цитофлавіну на антиоксидантну систему мозку та його аеробно-анаеробний баланс за умов ішемії сонних артерій.

Методи. 18 білих статевозрілих щурів-самців масою 230-250 г. було поділено на 3 групи, по 6 у кожній. 1 – інтактні (псевдооперовані) тварини; 2 – з експериментально розвиненою ішемією (двостороння перев'язка загальних сонних артерій), 3 – тварини з ішемією, що отримували цитофлавін ("Полісан", Російська Федерація) в дозі 1,7 мл/кг у відповідності до клінічних рекомендацій. Експеримент проводився з дотриманням всіх норм етичного поводження з тваринами.

По завершенню експерименту для подальших досліджень вилучали гіпокамп з мозку (з правої та лівої півкуль мозку) та готували гомогенат у 25 мМ трисовому буфері рН 7,4, що містив інгібітори протеїназ, дитіотрейтол та азид натрію. Після центрифугування при 50000 g вилучали супернатант, що містив цитозольні та водорозчинні компоненти. Біохімічні показники визначались за допомогою оптичних методів. Статистична обробка проводилась за критерієм Краскела-Уолліса для перевірки рівності медіан декількох вибірок та критерієм Манна-Уїтні для оцінки різниці між групами попарно.

Результати. Порушення мозкового кровотоку, спричинене двобічною перев'язкою загальних сонних артерій у щурів, на 5 добу дослідження супроводжувалося активацією окисного стресу в неокортексі та гіпокампі дослідних тварин, що супроводжувалося зростанням вмісту ТБК-реактивних продуктів - МДА більш ніж у 2 рази ($P < 0,05$) по відношенню до аналогічних показників групи інтактних тварин. Одночасно для цих тварин спостерігалася вірогідне зниження активності системи антиоксидантного захисту у вигляді пригнічення на 12-15% ($P < 0,07$) активності каталази. При цьому виявлено достовірне зниження головного енергетичного метаболіту в мозку – пірувату на 7-10% ($P < 0,005$) у дослідних відділах мозку щурів за умов розвитку ішемії. Застосування «Цитофлавіна» сприяє відновленню активності каталази та повернення вмісту пірувата до показників норми, що вказує на ефективність нейропротекторних властивостей даного препарату.

Висновки. За умов експериментального порушення мозкового кровообігу «Цитофлавін» гальмує прискорений перебіг реакцій окисного стресу, сприяє відновленню антиоксидантного захисту, та запобігає зниженню рівня пірувату.

3. ЕКОЛОГІЧНА БІОХІМІЯ

3. ENVIRONMENTAL BIOCHEMISTRY

CORRELATION ANALYSIS: ENVIRONMENTAL INFLUENCES ASSESSMENT

Olena Zaichenko¹, Anatolyi Dvoretzkyi²

¹State Institution Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipro, Ukraine

²Dnipro State Agrarian-Economic University, Dnipro, Ukraine
zaychenkoelena07@gmail.com

The Pridneprovskiy region is known to be the most polluted area of Ukraine. COVID-19 quarantine partially decreased the chemical load by heavy metals, but not the radiation due to the natural radiation background, enterprises of nuclear-fuel cycle and

the man-made *Chernobyl trace* isotopes. All of these create a significant radiation-chemical load on living organisms through food chains and water increasing the population morbidity here. Thus, there is a need to evaluate separate environmental influences and their action on body systems and organs, especially blood and brain, to study mechanisms of impact and to choose effective adaptogens then.

That's why the author's method of cross-correlation analysis was developed and the balance determining the structural-functional state of a cell, between the parameters of LPO (lipid peroxidation) by concentration of its final product MDA (malondialdehyde) and AOS (antioxidant system) by the TAA (total antioxidative activity), was studied. In order to reveal the authentic impact mechanisms, the MDA–TAA balance was assessed in brain cortex cells executing the most important integrative functions and being non-renewable versus erythrocytes and plasma of blood which is the internal medium serving the whole body. Besides, significant cross-correlations ($r > 0.4$) among all MDA and TAA indexes were estimated in terms of their average degree and quantities of positive (mutually stimulating) and negative (expensive) relations. The picture of cross-correlations was characteristic for each influence, and the level of each index controllability (the average arithmetic of $|r|$) contributed to the analysis above.

Using Wistar rats as a human model, our experiments designed pre-pandemic situation native to the region: the aqueous mixed solution of salts of the most spread metals: Cu, Pb, Cd, Co, Zn (2 MAC, maximum acceptable concentrations of each metal) as a drinking water and low-intensity radiation (0.01 Gy/day); both influences for 25 days separately or simultaneously.

It was found that under the irradiation, the adaptive-compensatory mechanisms work in the usual way including economy mode and rational resource redistribution within the body. Heavy metals have a powerful influence modulating radiation effects. Combination of these factors can produce antagonism while dominating the chemical agent. Analysis by the author's method shown that MDA–TAA balance in the non-renewable brain cells is normally maintained at the expense of their own antioxidant resources, whereas in the case of ecopathogenic impact – at the expense of antioxidant factors of rapidly renewable erythrocytes, that explains the radioresistance of nervous tissue. The regularities found by us have a general biologic nature. They are the reflection of fundamental mechanisms ensuring living systems' stability and their adaptation to conditions of technogenic pollution of the environment.

Thus, the method allows estimating agents of physical-chemical nature, the individual contributions to their joint action, and, by the same mode, an adaptogen use.

ОСОБЛИВОСТІ ОЦІНКИ БІОДОСТУПНОСТІ ПРЕПАРАТУ «БІОФОСФОМАГ» ЗА ВИКОРИСТАННЯ ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ В ПОЛІАКРИЛАМІДНОМУ ГЕЛІ

Лілія Калачнюк, Роман Пальонко, Олексій Арнаута,
Вікторія Прис-Каденко

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
Київ, Україна
arnauta_alex@ukr.net

PECULIARITIES OF ASSESSMENT OF BIOGAVAILABILITY OF THE DRUG «BIOPHOSPHOMAG» BY USING THE ELECTROPHORESIS IN THE POLIAMIDE GEL

Liliya Kalachnyuk, Roman Palonko, Oleksiy Arnauta,
Viktoria Prus-Kadenko

The National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Kiev, Ukraine

Assessment of the bioavailability of new drugs at the stage of their development and testing is increasingly being studied (*in vitro*), in contrast to (*in vivo*) research methods. Each digestive enzyme has certain ranges of pH, temperature, enzyme : substrate ratio, etc., in which it exhibits its catalytic activity in a living organism. These conditions can be artificially reproduced in the laboratory and performed with out the use of animals (*in vitro*).

Оцінка біодоступності нових препаратів на етапі їх розробки та випробувань все частіше досліджуються (*in vitro*), на противагу методам досліджень (*in vivo*). Кожен травний ензим має певні діапазони значень рН, температури, співвідношення ензим : субстрат та ін., у яких він проявляє свою каталітичну активність у живому організмі. Ці умови можна штучно відтворити у лабораторних умовах та провести дослідження без використання тварин (*in vitro*).

Для перевірки біодоступності препарату Біофосфомаг було обрано гідроліз таким травним ензимом, як трипсин - одним з найбільш вивчених і доступних ензимів, з послідуочим електрофорезом в 12% поліакриламідному гелі для підтвердження і візуалізації процесу гідролізу. Наявність процесу гідролітичного розщеплення препарату визначали денситометрично за інтенсивністю забарвлень треків. Інтенсивність забарвлення фракцій в препараті після обробки трипсином обернено корелює з кількістю пептидних зв'язків в молекулах, що піддались гідролітичному розщепленню.

Важливим чинником побудови схеми дослідження препарату Біофосфомаг є очікуваний шлях метаболізму препарату з розпадом до пептидів та окремих амінокислот. Тому, дослідження здатності до

гідролізу протеїнів виступає головним кроком в оцінці біодоступності останніх, адже швидкість гідролізу лімітує швидкість засвоєння.

Тест на здатність до гідролізу необхідна частина випробувань препарату Біофосфомаг через складність його молекулярної структури. Препарат за хімічною будовою є штучно фосфорильованим казеїном коров'ячого молока в якості ліганду, котрий хелатує іони магнію, однорідний порошок, який може бути легко таблетованим.

Хід аналізу

1) Дослідні зразки розчинили в центрифужних пробірках 1500 мкл до концентрації 50 мг/мл в TBS pH = 7,4. Казеїн розчиняли до концентрації 25 мг/мл в TBS pH = 10,5. Центрифужні пробірки зі зразками для повного розчинення зразків були витримані на водяній бані впродовж 30 хв за температури 37 °С.

2) Після розчинення від зразків був проведений відбір проб за наступною схемою: з кожного розчину зразків відібрано 20 мкл та додано по 20 мкл буферу для зразків і перемішали.

3) В дослідні зразки було додано по 50 мкл розчину трипсину, вміст перемішали не допускаючи утворення піни з допомогою вортексу. Після додавання розчину трипсину, зразки інкубували на водяній бані 45 хв за температури 37 °С.

4) Після 45 хв інкубування від зразків був проведений відбір проб за схемою аналогічною до попереднього відбору.

5) Зразки після відбору знову помістили на водяну баню за тих самих умов ще на 45 хв.

6) По завершенню інкубування (сумарно 90 хв) від зразків знову відібрали проби за тою ж схемою.

7) Перед нанесенням в гель всі проби були витримані на киплячій водяній бані по 3 хв. В гель було внесено по 30 мкл кожної проби в наступному порядку лунок: 1-стандарт, 2-казеїн, 3-вихідна сировина для синтезу, 4-вихідна сировина після обробки трипсином 45 хв, 5-препарат до обробки трипсином (паралель 1), 6-препарат після обробки трипсином 45 хв (паралель 1), 7-препарат після обробки трипсином 90 хв (паралель 1), 8-препарат до обробки трипсином (паралель 2), 9-препарат після обробки трипсином 45 хв (паралель 2), 10-препарат після обробки трипсином 90 хв (паралель 2). Процес розділення тривав 2 год. в режимі постійної сили струму 20 мА за температури 22 °С. Після чого гель був занурений в розчин для фарбування на 24 год, потім в розчин для відмивки на 48 год.

За результатами проведених досліджень визначено базові фізико-хімічні параметри фракції казеїну, вихідної сировини необхідні для синтезу препарату Біофосфомаг. Було показано, що досліджуваний препарат має високу здатність до гідролізу трипсином, на рівні з вихідною

сировиною для синтезу, що свідчить про його високу біологічну доступність для тварин.

ELIMINATION OF COPPER FROM RATS TISSUES WITH USING SORBENTS

Ihor Kalinin

National Pedagogical Dragomanov University, Kyiv, Ukraine

kalininihor@gmail.com

Environmental pollution by heavy metals will study the mechanisms of their effect on humans and animals and requires the development of new ways to protect against toxic effects. Sorbents have been widely used for the excretion of heavy metals and other foreign substances that come from the environment. Pressing problem is finding effective sorbents that could reduce the concentration of heavy metals in humans and animals. Sorbenti should be safe and effective, which would make it possible for regular prophylactic use.

The aim of our study was to research the efficacy of filinsit, chabazite, clinoptilolite and mordenite to elimination copper from the organism of rats. The study was performed on white male rats of the same age, weighing 180-200 g, kept under standard conditions of vivarium, with free access to food and water. There were formed two groups of animals: control group (intact animals) and experimental group (animals treated orally with copper sulfate solution at 3 mg/kg dose.) Poisoned of rats was carried out for 14 days, followed by two weeks was administered said aluminosilicates 0.25 g/kg of body weight once a day. After that, rats of both groups were decapitated under the anesthesia and their blood, livers and kidneys were harvested for further research. This study was carried out in accordance with European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes.

As a result of the experimental studies, we found that when using filinsitu decreased content of copper in the all tissues in 1,5 times. A similar decline is established using chabazite. The use of clinoptilolite contributed to the content in the blood decreased by 2 copper, in the liver and kidneys – in 3 times. The use of mordenite has reduced the blood levels of copper in 1,5 times, in the liver and kidney copper content decreased by 2.5 times compared to the intoxicated rats.

Thus, our studies show that rats intoxicated with copper sulfate application filinsitu, chabazite, clinoptilolite and mordenite effectively to elimination the specified heavy metal of all tissues examined.

ОЦІНКА ПОСУХОСТІЙКОСТІ СПОРІДНЕНИХ ВИДІВ ПШЕНИЦІ, ЕГІЛОПСУ, АМФІДИПЛОЇДІВ І СТВОРЕНИХ НА ЇХ ОСНОВІ ГІБРИДІВ ЗА РІВНЕМ ВИТОКУ ЕЛЕКТРОЛІТІВ

Галина Колюча, Тетяна Юрченко, Сергій Пикало
Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла НААН
Україна, 08853, с. Центральне, Миронівський район, Київська область
E-mail: pykserg@ukr.net

EVALUATION OF DROUGHT TOLERANCE OF RELATED SPECIES OF WHEAT, AEGILOPS, AMPHIDIPOIDS AND HYBRIDS BASED ON THEM BY ELECTROLYTE LEAKAGE METHOD

Halyna Koliucha, Tetiana Yurchenko, Serhii Pykalo
The V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat of NAAS
Ukraine, Myronivka district, Kyiv region

Drought tolerance of related species of wheat, aegilops, artificial amphidiploids and hybrids based on them by electrolyte leakage method was determined. It is shown that introgression hybridization is promising for creating drought tolerant wheat genotypes. The results are definite contribution to study of both theoretical and practical aspects of wheat drought tolerance and can be used as elements of breeding programs.

Обґрунтування та мета. Пшениця – одна з найважливіших продовольчих культур, оскільки пшеничний хліб є продуктом харчування населення більшості країн світу. Посуха є найбільш серйозною перешкодою при вирощуванні сільськогосподарських культур та отриманні максимального врожаю, оскільки вода необхідна для проходження кожного етапу розвитку рослини, починаючи з проростання насіння до дозрівання. Водний стрес призводить до зниження морфологічних і агрономічних параметрів, а також до порушень на фізіологічному, біохімічному і молекулярному рівнях. Зважаючи на це, актуальним є ідентифікація сортів пшениці, які добре пристосовані до нестачі води, а також визначення ефективних і надійних критеріїв відбору посухостійких форм. Показник інтенсивності виходу електролітів з тканин листків вегетуючих рослин після дії посухи вказує на ступінь пошкодження клітинної мембрани під впливом стресу і має зворотній зв'язок із посухостійкістю. Невичерпним джерелом розширення генетичного різноманіття в селекції пшениці залишається віддалена гібридизація, оскільки при міжвидових і міжродових схрещуваннях можливе отримання генетично збагачених гібридних популяцій, в яких існують форми з господарсько цінними ознаками. Мета досліджень – провести оцінку посухостійкості споріднених видів пшениці, егілопсу,

амфідиплоїдів і створених на їх основі гібридів за рівнем витоку електролітів та виділити джерела стійкості до водного дефіциту.

Методи. Матеріалом для досліджень були: 1) диплоїдні види пшениці: *T. monococcum* L, UA0300116, var. *macedonicum*; 2) тетраплоїдні: *T. durum* Desf., UA0200047, var. *hordeiforme*; *T. dicoccum* Schuebl, UA0300489, var. *atratum*; *T. ispahanicum* Heslot, UA0300070, var. *ispahanorufum*; *T. polonicum* L. UA0300337, var. *pseudocompactum*; *T. persicum* Vav., UA0300058, var. *persicum*; 3) гексаплоїдні види: *T. spelta* L., UA0300103, var. *duhamelianum*; *T. macha* Dok. et Men., UA0300250, var. *palaeoimereticum*; *T. sphaerococcum* Persiv., UA0300353, var. *tumidum*; 4) штучно створений вид *T. kiharae* Dorof. et Migusch (*T. timopheevii* / *Ae. tauschii*), UA0500014; 5) синтетичні амфідиплоїди: AS-7 (*T. durum* / *Ae. tauschii*), UA0500027; ПАГ-12 (*T. persicum* / *T. monococcum*); ПАГ-39 (*T. dicoccum* / *T. sinsckajae*); *T. dicoccum* / *Ae. tauschii*; AD 221-4 (*T. persicum* / *Ae. tauschii*), UA0500029; Авротика тетра Аврора / *Ae. mutica*, UA0500055; 6) види егілопсу: *Ae. cylindrica* Host subsp. *cylindricum*, UA0400040; *Ae. speltoides* Tausch subsp. *speltoides*, UA0400036; *Ae. variabilis* Eig subsp. *peregrine*, UA0400213; *Dasyphyrum villosum* UA0400224; 7) віддалені гібриди, одержані на основі схрещування сортів і ліній пшениці м'якої озимої зі спорідненими видами та синтетичними амфідиплоїдами: Миронівська 65 / *T. sphaerococcum*; Миронівська 65 / AD 221-4 (*T. persicum* / *Ae. tauschii*); Миронівська 65 / AS-7 (*T. durum* / *Ae. tauschii*); Favorit / *Ae. cylindrica*; Favorit / ПЕАГ (*T. dicoccum* / *Ae. tauschii*); Favorit / *T. sphaerococcum*; Лютесценс 418 / *T. spelta*. Сорти-стандарти – Елегія миронівська (пшениця м'яка яра) та Спадщина (пшениця тверда яра). Посухостійкість визначали впродовж 2017-2018 рр. в лабораторних умовах методом визначення інтенсивності виходу електролітів з рослинних тканин.

Результати. Отримані результати щодо виходу електролітів з листових тканин рослин різних видів пшениці, егілопса, штучних амфідиплоїдів та створених за їх участю гібридів вказують на те, що показники посухостійкості окремих малопоширених видів пшениці є досить високими. До таких відносяться: види пшениці – *T. dicoccum*, *T. macha*, *T. ispahanicum*, *T. sphaerococcum*, *T. polonicum*, *T. kiharae*; штучні амфідиплоїди – ПЕАГ (*T. dicoccum* / *Ae. tauschii*), *T. dicoccum* / *Ae. tauschii*, AS-7 (*T. durum* / *Ae. tauschii*), AD 221-4 (*T. persicum* / *Ae. tauschii*), ПАГ-12 (*T. persicum* / *T. monococcum*), Авротика. Посухостійкими виявились усі досліджені види егілопсів, особливо *Ae. speltoides*, якому притаманна ще і висока жаростійкість. Гібриди Favorit / *T. Sphaerococcum*, Миронівська 65 / AS-7 (*T. durum* / *Ae. tauschii*) та Л. 418 / *T. spelta* мали показники посухостійкості на рівні стандартів або перевищували їх.

Висновки. За результатами досліджень виявлено, що більшість досліджуваних зразків є високопосухостійкими. Решта генотипів, окрім одного, мала середню посухостійкість. Виділені генотипи рекомендовано в якості вихідного селекційного матеріалу при створенні нових сортів пшениці з цінними практичними властивостями. Показана перспективність інтрогресивної гібридизації для створення джерел високої посухостійкості. Отримані результати є певним внеском у вивчення як теоретичних, так і практичних аспектів посухостійкості пшениці та можуть застосовуватися як елементи селекційних програм.

БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ЕТИЛТІОСУЛЬФАНІЛАТУ НА СТАН ГЛУТАТІОНОВОЇ ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В НИРКАХ ЩУРІВ ЗА ДІЇ Cr(VI)

Богдан Котик, Руслана Іскра

Інститут біології тварин НААН, вул., Василя Стуса 38, Львів, Україна
kicyniabo@gmail.com

BIOLOGICAL FEATURES OF THE ETHYLTHIOSULFANYLATE INFLUENCE ON THE STATE OF GLUTATHIONE ANTIOXIDANT SYSTEM IN RAT KIDNEYS UNDER THE ACTION OF Cr(VI)

Bohdan Kotyk, Ruslana Iskra

Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

Glutathione antioxidant system (AOS) plays an important role in the maintaining of the antioxidant status in the cells of living organisms. Cr(VI)-induced oxidative stress leads to disturbance of glutathione AOS activity. Ethylthiosulfanylate (ETS) is a synthetic sulfur-containing organic compound and belongs to the class of thiosulfonates. Thiosulfonates demonstrate antioxidant properties and are involved in the mechanisms of antioxidant enzymes activation. The purpose of the study was to investigate the influence of ETS on the glutathione peroxidase (GP) glutathione reductase (GR) activity and reduced glutathione (GSH) content in the liver of rats exposed to Cr(VI).

Обґрунтування та мета. Глутатіонова ланка антиоксидантного захисту (АОЗ) відіграє важливу роль у підтриманні антиоксидантного статусу у клітинах живих організмів. Cr(VI)-індукований оксидативний стрес, призводить до порушення механізмів роботи ензимів глутатіонової ланки АОЗ. Етилтіосульфанілат (ЕТС) є синтетичним аналогом молекули алліцину та відноситься до класу сполук тіосульфонатів, які характеризуються антиоксидантною дією та залучені у механізмах активації ензимів АОЗ. Тому, метою досліджень було з'ясувати вплив ЕТС на показники активності глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази

(ГР) та вміст відновленого глутатіону (GSH) у нирках щурів, уражених Cr(VI).

Методи. Дослідження проводили на самцях-аналогах лабораторних щурів, розділених на 7 груп по 5 тварин у кожній. Тваринам I групи (інтактний контроль) внутрішньоочередово (в-о) щоденно вводили 150 мкл фізрозчину (ф-ну) протягом 7 діб. Тваринам III та IV груп в-о щоденно вводили $K_2Cr_2O_7$, розчинений у 150 мкл ф-ну, у перерахунку 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7 діб (III група) та 14 діб (IV група). Тваринам II групи внутрішньошлунково (в-ш) щоденно вводили 1 мл олії протягом 14 діб, після цього в-о щоденно вводили 150 мкл ф-ну протягом 7 діб. Тваринам V, VI, VII групи в-ш щоденно вводили 1 мл олійного розчину ЕТС з розрахунку 100 мг/кг маси тіла протягом 14 діб після цього в-о щоденно вводили 150 мкл ф-ну протягом 7 діб (V група) або $K_2Cr_2O_7$ протягом 7 (VI групи) та 14 діб (VII групи). Матеріалом для досліджень слугували гомогенати нирок щурів, у яких визначали вміст GSH та активність ГП та ГР. Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL, використовуючи метод one-way ANOVA.

Результати. Активність ГП вірогідно зростала у нирках щурів III та IV груп у порівнянні з I групою на 128 та 43% відповідно. Проте, активність ГР вірогідно здижувалась у тканині нирок тварин III та IV груп щодо I групи на 37 та 41% відповідно. Вміст GSH у нирках щурів III групи вірогідно зростав на 7% у порівнянні з I групою. Проте, у тканині нирок щурів IV спостерігалось вірогідне зниження концентрації GSH на 23% щодо I групи. Вміст GSH у нирках тварин V, VI, VII груп вірогідно зростав щодо II групи на 36, 39 та 38%, відповідно.

Висновок. Результати досліджень вказують на те, що 7-ми добова дія Cr(VI) призводить до незначної акумуляції пулу GSH (III група), а після 14-ти добового впливу Cr(VI) спостерігається вичерпання запасів GSH (IV група) у тканині нирок тварин. Також дія Cr(VI) спричиняє активацію ГП (III, IV група) та зниження активності ГР (III, IV група) у нирках щурів. За впливу ЕТС спостерігається збільшення вмісту клітинного GSH (V група), а попереднє введення ЕТС частково компенсує прояви Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу за рахунок відновлення та акумуляції пулу GSH у тканині нирок щурів (VI, VII група).

Згідно даних літератури, причиною активації ГП у тканині нирок щурів за дії $K_2Cr_2O_7$ може бути Cr(VI)-індуковане зростання вмісту ГПЛ та концентрації пероксиду водню. Причиною інгібування активності ГР за дії $K_2Cr_2O_7$ є процес відновлення Cr(VI), який супроводжується зниженням вмісту НАДФН, пригніченням роботи ГР і, як наслідок, вичерпанням запасів клітинного GSH. ЕТС, як представник тіосульфонатів, може бути задіяний у механізмах активації факторів транскрипції генів, відповідальних за процеси відновлення та синтезу молекл GSH та НАДФН,

які є ключовими елементами, необхідними для коректної роботи ензимів глутатіонової ланки АОЗ.

ВПЛИВ АЕРОПОЛЮТАНТІВ НА НАКОПИЧЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ В НАСІННІ *Sorbus aucuparia L.*

Тетяна Легостаєва, Ольга Біла

Національний університет імені Олесея Гончара, Дніпро, Україна
olha.bila29@gmail.com

AEROPOLLUTANTS' INFLUENCE ON ASCORBIC ACID ACCUMULATION IN SEEDS OF *Sorbus aucuparia L.*

Tetyana Legostaeva, Olha Bila

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

The dependence of the amount of ascorbic acid as a component of antioxidant protection in plant tissues on the number of air pollutants in the environment. Ascorbate as a component of the antioxidant system associated with glutathione and tocopherol, which provides plant immunity.

Обґрунтування та мета. Виявити та дослідити залежність кількості аскорбінової кислоти як компоненту антиоксидантного захисту в тканинах рослин від кількості аерополіутантів у навколишньому середовищі.

Аскорбінова кислота (АК, аскорбат) – унікальна поліфункціональна сполука, що здатна зворотно окислюватись та відновлювати вільні радикали, мінімізуючи порушення окисного стресу. Це компонент антиоксидантної системи, пов'язаної з глутатіоном і токоферолом. АК приймає участь у фотосинтезі, диханні, захисних реакціях рослин та забезпечує рослинний імунітет, одним з проявів якого є нормальне або підвищене накопичення аскорбату. У хімічному відношенні АК є лактоном 2,3-дієнол-1-гулонової кислоти з емпіричної формулою $C_6H_8O_6$.

АК реагує з супероксидом кисню, пероксидом водню та радикалом токоферолу, при цьому окислюючись до монодегідроаскорбінової кислоти (МДГА) або до дегідроаскорбінової кислоти (ДГА). Окиснені форми перетворюються в аскорбат за допомогою редуктаз МДГА та ДГА відповідно. В першому випадку використовується відновлений еквівалент $NADPH+H^+$, а в другому – глутатіон.

АК може прямо (без апоферменту) і в якості кофактору аскорбатоксидази інактивувати вільні радикали, виконуючи подібну роль з супероксиддисмутазою, а також побічно приймати участь в детоксикації, відновлюючи токоферол.

Вважають, що захисну функцію виконує не відновлена АК, а її окислена форма, оскільки у стійкого до пероноспорозу сорту гороху в клітинах, розташованих в місці ураження, частина АК була представлена окисленої формою. Досліджували вплив комплексного атмосферного забруднення в досягаючому насінні *Sorbus aucuparia* L., що зростають в різних районах м. Дніпро: парку ім. Л. Глоби, пр. О. Поля, бульварі Зоряний, вул. Донецьке шосе і чистій контрольній зоні (с. Першотравенка, близько 70 км від міста Дніпро).

Методи. Виділення аскорбінової кислоти (Плешков, 1968). 2 г свіжої сирової тканини рослини розтирають на льоді у порцеляновій ступці з 20 мл 5% розчину ортофосфорної кислоти, з додаванням скляного піску, до стану однорідної маси, яку переносять через воронку в мірну колбу на 50 мл, змиваючи ступку залишком ортофосфорної кислоти. Вміст колби доводять до позначки дистильованою водою, перемішують та залишають на 5 хвилин. Потім збовтують колби 2-3 хв й фільтрують матеріал через сухий складчастий фільтр до сухої колби.

Визначення вмісту аскорбінової кислоти. В три бюкси брали по 5 мл фільтрату й титрували з бюретки 0,001 н. розчином 2,6-діхлорфеноліндофенолят натрію до слабо-рожевого кольору, який не зникав протягом 1 хвилини.

Результати. Вміст аскорбату в насінні має певну залежність від умов зростання дерев. Так, найменша кількість вітаміну С відмічена в насінні у вересні на забруднених аеровикидами автотранспорту дослідних ділянках. Аналіз експериментальних даних вказує, що в серпні у насінні дерев горобини звичайної, які зростають в с. Першотравенка, концентрація аскорбату становить 50,2 мкг/г сирової речовини. У насінні *Sorbus aucuparia* L., відібраного з парку Л. Глоби в цей період уміст аскорбінової кислоти достовірно збільшений на 25% відносно насіння чистої зони. У репродуктивних органах горобини звичайної, що зростає на узбіччі бульвару Зоряний і пр. О. Поля вміст даного антиоксиданта перевищував контроль на 30-35 %. Максимальне значення аскорбату зареєстровано у насінні з ділянки вулиця Донецьке шосе - 43 %. В насінні *Sorbus aucuparia* L. техногенних територій м. Дніпро в вересні відмічено певне зниження накопичення аскорбату відносно насіння горобини з с. Першотравенка на 25 % (парк Л. Глоби), на 30-32 % (бр. Зоряний і пр. О. Поля) та на 35 % (вул. Донецьке шосе).

Висновки.

1. Встановлено, що насіння *Sorbus aucuparia* L. характеризується коливаннями вмісту аскорбінової кислоти. В серпні і жовтні вміст вітаміну С високий, а в вересні відмічено його достовірно зниження на 25-35 %. Вміст в ньому аскорбату залежить від місця зростання та рівня забруднення аерополітантами.

2. Показник вмісту аскорбінової кислоти можна використовувати для оцінки стану рослин у стресових умовах та їх стійкості до аеротехногенного забруднення.

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ ДОБАВКИ ГУМІНОВОЇ ПРИРОДИ НА ОСНОВНІ ПОКАЗНИКИ РОСТУ, РОЗВИТКУ ТА ЗАХИСТУ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН

Альбіна Невідник-Правда¹, Ольга Дьомшина¹, Тетяна Платонова²

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро,
Україна

² Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро,
Україна

aaasssaaa079@gmail.com

IMPACT OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVE OF HUMATE NATURE ON GROWTH, DEVELOPMENT AND PROTECTION OF MEDICAL PLANTS

Albina Nevidnyk-Pravda¹, Olga Dyomshyna¹, Tetyana Platonova²

¹ Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

² Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Humilide is a biologically active feed additive that has a wide range of applications in crop production, animal husbandry and poultry farming. The expediency and effectiveness of the use of humilide solutions under the conditions of cultivation of medicinal plants *Centaurea cyanus* and *Calendula officinalis* have been proved.

Вирощування лікарських рослин є важливою ланкою фармакологічної промисловості. Тому, вирощування здорових, екологічно чистих рослин для подальшого їхнього застосування в лікарських засобах потребує дуже ретельного підходу. Одним з таких є застосування екологічно безпечних природних стимуляторів росту та розвитку до яких відносяться біологічно активні добавки гумінової природи (Христева, 1979). Найбільш відомим серед гумінових біорегуляторів є «Гумілід» (ТУ У 15.7–00493675–004:2009) розроблені співробітниками науково-дослідної лабораторії з гумінових речовин ім. проф. Л.А. Христевої ДДАУ. Завдяки унікальній структурі та складу дозволяють отримувати екологічно чисту продукцію за різних типів забруднення навколишнього середовища, збільшують стійкість рослин до збудників хвороб, прискорюють їх зростання і дозрівання (Христева, 1979; Орлов, 1990; Горова, 1995). В Україні одними з найбільш поширеними лікарськими рослинами, які використовують в терапії різних захворювань є *Calendula officinalis* та *Centaurea cyanus*. Ці лікарські рослини застосовують у стоматології, гастроентерології,

гінекології, дерматології, урології, отоларингології. Тому мета роботи полягала в дослідженні стану антиоксидантної системи та ефективності використання розчинів біологічно активної добавки Гумілід за умов вирощування лікарських рослин *Calendula officinalis* та *Centaurea cyanus*.

Матеріалом дослідження були первинні листки та корінці *Calendula officinalis* та *Centaurea cyanus*. Рослини вирощували у відкритому ґрунті зі звичайним режимом поливу. Робочі розчини біологічно активної кормової добавки Гумілід використовували в концентрації 0,05 та 0,01%. Кожний вид рослини був поділений на 6 дослідних груп по 10 зразків у кожній.

Для вирішення завдань дослідження використовували методи диференційного центрифугування, колориметрії та спектрометрії.

Встановлено стимулюючий ефект компонентів розчину біологічно активної добавки Гумілід в концентрації 0,01% на амінокислотний, білковий та вуглеводний обмін у первинних корінцях *Centaurea cyanus*. В той же час, застосування 0,005% Гуміліду сприяє утворенню фенольних сполук, що забезпечує стійкість рослини до факторів навколишнього середовища. також, слід зазначити, що саме 0,01% розчин біологічно активної добавки Гумілід надавав стимулюючий ефект на ріст і розвиток первинного листя *Centaurea cyanus*, а саме, за рахунок інтенсифікації біосинтезу білка, активації процесів дихання та фотосинтезу, антиоксидантного захисту. Таким чином, саме 0,01% розчин біологічно активної добавки Гумілід є найбільш ефективним розчином у проростанні та розвитку *Centaurea cyanus*.

На відміну від *Centaurea cyanus*, для *Calendula officinalis* спостерігали іншу закономірність. Так, у первинних корінцях *Calendula officinalis* стимулюючий ефект спостерігали для 0,005% концентрації компонентів розчину біологічно активної добавки Гумілід, тоді як за умов застосування 0,01% розчину такий ефект не спостерігали. Отже, 0,005% розчин гуміліду викликав стимуляцію амінокислотного обміну, зокрема, таких вільних амінокислот, як пролін та окипролін, стимуляцію ферментів антиоксидантного захисту: каталази та супероксиддисмутази, які підвищують стійкість рослини в умовах інтенсивного росту та розвитку. Також, саме 0,005% розчин біологічно активної добавки Гумілід сприяв стимуляції ріст і розвиток первинного листя *Calendula officinalis* за рахунок активації біосинтезу білка та утворення фенольних сполук, які посилюють фотосинтез та дихання рослинних клітин, збільшують стійкість *Calendula officinalis* до зовнішніх впливів. Важливою особливістю захисної системи *Calendula officinalis* за умов стимуляції гумілідом була активація основного рослинного антиоксидантного ферменту аскорбат пероксидази.

Отже, підсумовуючи отримані результати, слід зазначити важливість індивідуального підходу при підборі робочих концентрацій біологічно

активної добавки Гумілід за умов вирощування лікарських рослин: *Centaurea cyanus* і *Calendula officinalis*. Так, для *Centaurea cyanus* рекомендованою концентрацією є 0,01% розчин гуміліду, а для *Calendula officinalis* - 0,005%.

ВПЛИВ ЕЛЕКТРОННИХ СИГАРЕТ НА ЕНДОТЕЛІЙ СУДИН

Тетяна Попова

Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна
popovatatyanamikh@gmail.com

IMPACT OF ELECTRONIC CIGARETTES ON THE VASCULAR ENDOTHELIUM

Tetiana Popova

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

The electronic cigarettes (EC) have been spread significantly over the last decade in Ukraine. Although the harmful effects of tobacco cigarettes are well admitted, the potential risks of EC impact on health require researches. WAG rats have been exposed to EC vapor for 30 days. The serum nitrate and nitrite levels were determined by K.M. Miranda method. The serum endothelin-1 level was measured with an enzyme-linked immunosorbent assay kit (USA). The 30 days EC vapor exposure causes a statistically significant increase concentration of nitrates and nitrites, tends to elevate level of endotheline-1 in the blood serum of WAG rats that is associated with endothelial dysfunction.

Обґрунтування. Поширеність використання електронних сигарет (ЕС) значно зросла за останнє десятиліття в Україні. Вдихання аерозолу ЕС розглядається споживачами як безпечна альтернатива палінню звичайних тютюнових сигарет. Хоча шкідливі наслідки вживання тютюнових сигарет добре встановлені, потенційні ризики від дії ЕС на здоров'я потребують досліджень.

Мета. Оцінити вплив аерозолу ЕС на рівень нітратів, нітритів, ендотеліну-1 (ЕТ-1) в сироватці крові лабораторних щурів.

Матеріали та методи. Експеримент проведено на 30 щурах лінії WAG обох статей, віком 10 тижнів. Щурів розподілили на дві групи: 1-а група – контрольні тварини (n=10), 2-а група – тварини (n=20), що інгаляційно отримували аерозоль ЕС протягом 30 діб. Для одночасної експозиції аерозолу ЕС 20 щурам використовували камеру Боярчука. Рівні нітратів і нітритів у сироватці крові визначали методом, запропонованим Miranda К.М. Визначення рівня ЕТ-1 у сироватці крові проводили імуноферментним методом за допомогою набору реактивів. Статистичний аналіз даних виконано за допомогою програми STATISTICA 7.0. Результати представлено як медіана (Me) та інтерквартильний розмах [значеннями 25-го та 75-го перцентилів]. Відмінності в значеннях між

групами аналізували за допомогою U-критерію Манна-Уїтні. Значення $p < 0,05$ вважалося статистично вірогідним.

Результати. Після 30-ти денної дії аерозоліу ЕС виявлено підвищення концентрації нітратів Me – 38.74 [37.36; 39.27] мкмоль/л, $p=0.023471$ та нітритів Me – 8.34 [7.64;9.13] мкмоль/л, $p=0.023424$ у сироватці крові щурів 2-ої групи в порівнянні з 1-ою групою (нітрати Me – 37.38 [37.18;37.73] мкмоль/л та нітрити Me – 6.26 [6.14;6.89] мкмоль/л). У порівнянні з щурами 1-ої групи Me – 6.27 [5.93;6.85] пмоль/мл рівень ET-1 в сироватці крові щурів 2-ої групи мав тенденцію до підвищення Me – 7.02 [6.34;7.47] пмоль/мл, $p=0.0679$. Підвищене утворення нітратів та нітритів на 30 добу дії аерозоліу ЕС, можливо пояснити, як компенсаторну реакцію, пов'язану переважно з окислювальним стресом, що відбувається в організмі щурів 2-ої групи. Так, у двох незалежних дослідженнях в аерозолях електронних сигарет були виявлені карбоніли та наночастки важких металів, які стимулюють утворення активних форм кисню (Goniewicz M.L. et al., 2014; Kosmider A. et al., 2014). Рідина електронних сигарет містить основні компоненти: пропіленгліколь, гліцерин, нікотин і ароматизатори. При нагріванні рідини ЕС до температури 300^oC відбувається піроліз гліцерину з утворенням наступних карбонілів: формальдегіду, акролеїну і ацетальдегіду. Формальдегід, акролеїн і ацетальдегід належать до токсичних, канцерогенних хімічних речовин, які зазвичай не виявляються в рідинах для ЕС. Хоча концентрація токсичних карбонілів, визначених в аерозолі ЕС, значно менше, ніж у диму тютюнових сигарет, потенціал їх негативного впливу на окислювальні процеси у клітині недооцінений. Крім того, нагрівальні пристрої ЕС здатні випускати наночастки наступних металів: міді, хрому, нікелю і кадмію, які користувач потім вдихає (Brown C.J. & Cheng J.M., 2014; Hess C.A. et al., 2017). Ці метали, в свою чергу, посилюють вільно-радикальне окислення компонентів клітинних мембран, що призводить до апоптозу ендотеліальних клітин і, як наслідок, виділення ендотеліну-1 у кровоток.

Висновки. В умовах 30-ти денної дії аерозоліу ЕС виявлено статистично значуще підвищення концентрації нітратів і нітритів, збільшення вмісту ендотеліну-1 у сироватці крові щурів, що може свідчити про розвиток ендотеліальної дисфункції.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ КОРМОВИХ ДОБАВОК ГУМІНОВОЇ ПРИРОДИ НА АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС ПЕЧІНКИ ТА М'ЯЗІВ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ І ГЕРБЕЛІВ

Лілія Степченко¹, Ольга Дьомшина², Галина Ушакова²

¹ Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро,
Україна

² Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро,
Україна

stepchenko2@gmail.com

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF HUMATE NATURE FEED ADDITIVE ON THE ANTIOXIDANT STATUS OF THE LIVER AND MUSCLES OF CHICKEN-BROILERS AND GERBILS

Lilia Stepchenko¹, Olga Dyomshyna², Galyna Ushakova²

¹ Dnipro State Agrarian-Economic University, Dnipro, Ukraine

² Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Широке застосування біологічно активних добавок гумінової природи, отриманих з екологічно безпечного торфу України, є одним із чинників, які здатні підвищити ефективність виробництва високоякісної продукції агропромислового сектору економіки (Stepchenko 2005). Ефективність застосування пов'язана з широким спектром біологічної активності сладових гумінових добавок, які стимулюють метаболічні процеси в організмі тварин (Rath et al., 2006; Weber 2014). Одночасно з цим, можливі зміни в окисно-відновному баланс (Arafat et al., 2017; Arif et al., 2019). Мітохондрії - органели клітин, які є продуцентами реактивних метаболітів. Визначення ступеню окиснення мітохондрій печінки та м'язів тварин може допомогти встановити та порівняти вплив гумінових добавок на цей процес. Тому, порівняльний аналіз проявів антиоксидантних властивостей гумінових речовин у домашніх птахів і гризунів (тварин, віддалених один від одного в еволюційній систематичній ієрархії) важливий етап дослідження (Arafat et al., 2015; Vaskova et al., 2011). З'ясування взаємозв'язків між різними живими організмами, що відрізняються між собою метаболізмом та регуляцією антиоксидантної системи, дадуть можливість давати рекомендації при вирощуванні високопродуктивних тварин.

Експеримент проводили на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 та 6-місячних піщанках, яких утримували в стандартних умовах. Усі маніпуляції проводили згідно з правилами "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986). Дослідних тварин було поділено на 2 групи: 1 - інтактні тварини (контроль), 2 - тварини, яким додавали до

питної води 1% розчин кормової біологічно активної добавки гумінової природи Гумілід в оптимальній кількості (Михайленко, 2015) протягом 21 доби. В кінці експерименту після зважування, проводили декапітацію під наркозом. М'язи та печінку збирали, промивали сольовим розчином та використовували для подальших досліджень. Для вирішення завдань дослідження використовували методи диференційного центрифугування, колориметрії та спектрометрії.

Першою реакцією клітини на ксенобіотики є утворення активних форм кисню, до яких входить малоновий діальдегід (МДА). Додавання 1% гуміліду до питної води не змінювало концентрацію МДА в гомогенаті печінки піщанок та курчат-бройлерів, а також у м'язах курчат-бройлерів. Показано різний механізм модуляції активності каталази (КТ) та супероксиддисмутази (СОД) печінки гризунів та птиці під впливом гуміліду. Так, активність КТ була підвищена в гомогенаті печінки піщанок, але активність СОД у цьому випадку коливалась в межах контрольної групи. У печінці курчат-бройлерів кросу Cobb 500 спостерігали знижену активність СОД, але активність КТ варіювала в межах контрольної групи. Біологічно активні компоненти Гуміліду можуть впливати на печінку гризунів внаслідок активації процесів адаптації, як зазначалося раніше (Лотош, 1991; Попов, 2004; Попов та ін., 2016). Можливе зниження активності СОД у печінці курчат-бройлерів пов'язане з антиоксидантними властивостями гумінових речовин у складі гуміліду, внаслідок чого відбувається зниження концентрації окиснених продуктів, включаючи супероксид-аніон. У м'язах активація каталази в мітохондріях білих м'язів курчат-бройлерів

Встановлено вплив гуміліду на концентрацію цитохрому С у мітохондріях печінки піщанок, тоді як у м'язах піщанок і печінці та м'язах курчат-бройлерів будь-яких змін не спостерігали. Значення концентрації МДА в печінці піщанок варіювало в межах контрольної групи, що свідчить про відсутність розвитку окисного стресу. А, підвищення концентрації цитохрому С цієї дослідної групи тварин можна пояснити стимуляцією синтетичних процесів у клітинах печінки піщанок гуміновими кислотами у складі гуміліду. Це підтверджує регуляторні властивості гумінових кислот, показані в роботах Степченко (2010).

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що додавання гумінових добавок як джерела гумінових речовин у питну воду може поліпшити стійкість птиці та гризунів до різних видів окисного стресу. Однак, незважаючи на значні досягнення в встановленні механізмів дії гумінових речовин на організм тварин, з'ясування взаємозв'язків між різними живими організмами потребує подальших досліджень.

HEATING DISTORTS BIOCHEMICAL RESPONSES OF BIVALVE MOLLUSK TO MIXTURE OF PHARMACEUTICALS AND PESTICIDE

Vira Khoma¹, Viktoria Martinyuk¹, Tetyana Mackiv^{1,2}, Katerina Yunko¹, Roksolana Formanchuk¹, Lesya Gnatyshyna², Oksana Stoliar¹

¹Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine,

Oksana.Stolyar@tnpu.edu.ua

²I.Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine, gnatyshynall@tdmu.edu.ua

Background and aim. The modelling of real-life exposures to confounding factors must include the combination of environmentally relevant impacts (so-called ‘eco-exposome’). The contemporary pollution of surface waters is associated with the pharmaceuticals, personal care products, and agricultural effluents. The elevated temperature as a manifestation of global warming and/or consequence of anthropogenic modification of river streams must be also taking into account. Bivalve mollusks are highly approved biosentinels because of their feeding behavior and sensitivity of stress responses to low concentrations of contaminants. Therefore, the goal of this study was to evaluate the contribution of heating in the impact of mixture of waterborne pharmaceuticals and pesticide on the freshwater bivalve mollusk.

Methods. We treated the mussels *Unio tumidus* (Philipsson, 1788) with the mixture containing non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac (Dc, Diclofenac-Darnitsa, 600 ng L⁻¹ or 2 nM), calcium antagonist and hypertensive drug nifedipine (Nf, Nifedipinum Retard-Darnitsa, 700 ng L⁻¹, or 2 nM) and organophosphonate pesticide Roundup (Rn, formulation Roundup MAX, Monsanto, USA, 33.8 µg L⁻¹, corresponding to 13.4 µg L⁻¹ or ~79 nM of glyphosate) at the temperature 18° C (Mix) and 25° C (MixT) during 14 days. Negative control (without addition of these substances) and positive controls (exposures to single substances at the temperature 18° C) were also applied. The indices of oxidative injury (superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase (GST) activities, the generation of end-products of lipid peroxidation (TBARS) and protein carbonyls (PC)), the levels of cellular low weight thiols glutathione (GSH/GSSG) and metallothionein (MTSH), zinc (Zn) and copper (Cu) accumulation and distribution between metallothioneins (Zn-MT, Cu-MT) and other tissue compounds were analyzed. The activities of apoptotic/autophagy enzymes caspase-3 (Cas-3) and cathepsin D (CtD, lysosomal and its efflux), lysosomal membrane stability (NRR) and cholinesterase (ChE) activity as the index of neurotoxicity were also determined in digestive gland and hemocytes (NRR). Spectrophotometric and chromatographic (for metallothionein elution and Zn, Cu-MT analysis) methods were utilized. The

IBM SPSS Statistics version 24 software for Windows and Excel for Windows-2010 were used for the data analysis.

Results. Generally, 81.7 % of the total variance of dataset was explained by two first components of Principal Component Analysis. For the indication of groups by Canonical discriminant analysis, the following variables were selected: SOD, TBARS, MTSH, NRR, CtD, Cas-3, ChE, and ratio of Zn/Cu in digestive gland. Data integrative analysis have shown high similarity between the responses of mollusks to Mix and MixT. The groups of mollusks that were exposed to mixtures (Mix, MixT) were distinctly separated from the set of control (positive and negative) groups. Lesser distinction was shown for the Rn-group. At that, the groups subjected to mixtures, have shown the specific tracks of each individual impact. The exposures to mixtures resulted in the cathepsin D up-regulation, the same as the impact of diclofenac in single exposure. Interestingly, the increased NRR was detected in the exposures to mixtures, the same as to nifedipine. Most prominent impact was shown for roundup: the distortion of metal binding to metallothioneins that can be attributed to known adhesive properties of glyphosate towards metals. Particular effect in Mix and MixT groups was the depletion of Zn/Cu ratio in the digestive gland that indicates the disruption in metal transport and/or metabolism. However, the complex impact of chemical mixture and heating caused some specific effects, opposite to those indicated in all other exposures. It was the activation of SOD (that was down-regulated in all other exposures) and ChE. In addition, the highest Cas-3 activity, CtD efflux from lysosomes and the highest level of PC compare to other treatments were detected in the MixT group. These results have confirmed the preliminary studies of our group, that detected the distortion and even diminishing of the specific effect of certain xenobiotic on the mollusks depending on the heating. Therefore, it is crucial to select the sensitive index that reflects the disruption of adaptive or detoxification responses to single factor in exposure to mixture of chemical and physical factors. In the present study, at all simplicity and generality, Zn/Cu ratio seems to most sensitive reflect the disturbance of cellular metabolism and signaling under the combine exposure. This disturbance can indicate the inability of cellular soluble thiols (GSH and MTSH), so called 'soluble thiolome' to coordinate these essential metals due to the oxidative impact of mixture.

Conclusion. In our proposed model, we tried to adjust the conditions of environmentally realistic combination of adverse impacts. This allowed to track the addition of specific responses to each substance in combine exposure to chemicals with involving of metal-chelating, lysosomal and apoptotic functionality and to show that heating can add unpredictable changes in the common response of the organism and can reflect the exhausting of adaptive responses to each chemical compound of mixture.

This work has been granted by the award of Ministry of Education and Science of Ukraine (Project 132B and Ukrainian-Lithuanian R&D Project No M19/2020 under the Lithuanian-Ukrainian Cooperation Program).

GC-MS DETECTION OF PHTHALATES IN THE EXTRACTS OF CUTICULAR WAX OF GARDEN TREES LEAVES AND FRUITS

Nina Khromykh, Andriy Anischenko, Yuri Lykholat, Olexandr Gaponov, Oleg Didur

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Khromykh2012@gmail.com

Phthalates (esters of o-phthalic acid) have traditionally been considered artificially synthesized compounds that are widely used in various fields of human activity, simultaneously polluting the air and water bodies. However, recent studies have provided data on the detection of biogenic phthalates in various organisms, including direct evidence of their biosynthesis from labeled precursors. Synthesis of phthalates in plants may be associated with protection against pathogens. Cuticle makes the primary contact of plants with pathogens, therefore the aim of the work was to detect phthalic acid esters in extracts of leaves and fruits epicuticular waxes. Plant material was collected at the Dnipro National University Botanical Garden in July 2020 from a compactly located trees that were not treated with chemicals. The epicuticular waxes were immediately extracted with chloroform, which was then removed by evaporation in a stream of nitrogen. GC/MS analysis was performed using Shimadzu GCMS-QP 2020 EI equipped with Rxi®-5ms column (30 m × 0.25 mm, film thickness 0.25 μm). The column temperature was kept at 50°C for 5 min and increased to 300°C at a rate of 15°C/min and kept constant at 300°C for 10.5 min. The carrier gas helium passed at a flow rate 54 ml/min. Injector temperature was 300°C; sample volume was 1 μl. Mass Spectrum Library 2014 for GSMS (O2125401310) was used to identify the separated compounds by comparing their retention times and mass peaks with library data. In general, three different phthalic acid esters have been identified in extracts of leaf and fruit waxes of peach (*Prunus persica*), almond (*Prunus dulcis*) and four hybrids. Di-n-ethyl phthalate was found in the wax extract of the leaves of hybrid No. 4, while it was absent in all other samples. 1-butyl 2-decyl phthalate was present in the fruit wax extract of hybrid No. 1 only. At the same time, di-n-octyl phthalate was found in wax extracts of leaves of *P. dulcis* and hybrid No. 1, as well as in fruit extracts of *P. persica* and hybrids No. 1, No. 2 and No. 3. Thus, *P. persica*, *P. dulcis* and three out of four studied hybrids contained phthalates only in the fruit wax extracts and did not contain them in the leaf wax extracts. Only one hybrid has been shown to contain two different phthalic acid esters in leaf and

fruit wax extracts. Obviously, the results obtained do not give an unambiguous answer either about the endogenous origin of phthalates or about the absorption of these compounds from the environment. However, given the differences in the distribution of several phthalic acid esters in the wax extracts of leaves and fruits of closely growing trees, there is reason to assume the possibility of biosynthesis of the detected phthalates.

ОЦІНКА ТЕМПУ ВЕСНЯНОГО РОЗВИТКУ КОЛОНІЙ МЕДОНОСНИХ БДЖІЛ ЗА ДІЇ ПРЕПАРАТУ «АППЛАЗМА»

**¹Людмила Язловицька, ¹Остап Паламар, ¹Василь Паламар, ²Василь
Кравчук, ¹Роман Волков, ¹Ірина Панчук**

¹Інститут біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного
університету імені Юрія Федьковича, Чернівці, Україна

²Приватний підприємець, Чернівці, Україна

¹l.yazlovitska@chnu.edu.ua, ²krafthealth@gmail.com

EVALUATION OF THE SPRING DEVELOPMENT RATE OF HONEY BEE COLONIES UNDER THE INFLUENCE OF "APIPLASMA" DRUG

**¹Liudmyla Yazlovitska, ¹Ostap Palamar, ¹Vasyl Palamar, ²Vasyl Kravchuk,
¹Roman Volkov, ¹Irina Panchuk**

¹Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi, Ukraine

²Private entrepreneur, Chernivtsi, Ukraine

Feeding of bees with sugar syrup with the addition of the drug "Apiplasma" (a mixture of micro- and macroelements) led to a significant increase in the rate of spring development of bee colonies. In the experimental groups, in comparison with the control, the growth rate of the brood area increased by 4.7 and 2 times, respectively, in bee colonies of medium and weak strength.

В останні роки все більше занепокоєння викликає проблема глобальної втрати популяцій медоносних бджіл (*Apis mellifera* L.), що загрожує катастрофічними наслідками не лише для екосистем планети, але й для продовольчої безпеки та світової економіки. Стресові фактори біотичної та абіотичної природи (кліщ Варроа, віруси, монофлорна дієта, пестициди тощо) знижують імунітет та впливають на перебіг фізіологічних процесів в організмі бджіл. Різноманітність нутрієнтного складу кормової бази є одним з вирішальних чинників, що формує силу колоній. Тому пошук речовин, здатних підвищувати життєздатність колоній медоносних бджіл в ситуації, що склалась є досить актуальним. Одним з способів вирішення цієї проблеми є використання для підгодівлі бджіл мінеральних добавок. Таким препаратом може бути суміш макро- та мікроелементів,

яка позитивно впливає на функціональний стан хребетних. Проте на сьогодні не з'ясовано вплив таких сумішей на бджіл. Тому ми вивчали фізіологічний стан бджолиних сімей за дії препарату «Апіплазма».

Експеримент проводили на стаціонарній приватній пасіці у Надвірнянському районі Івано-Франківської області. Для досліду було взято 56 бджолосімей – 30 середньої (4-5 стільників бджоли) та 26 слабкої (2-3 стільника бджоли) сили, з яких було сформовано контрольні та по 4 дослідні групи. Всі бджолосім'ї були здорові та мали природно запліднені матки одного віку (2019 року). Обробка бджіл від кліща *Varroa* проводилась восени препаратом «Біпін». Підгодівлю бджолосімей проводили з 20 березня по 23 травня 2020 року короткими періодами у 2-3 дні з інтервалом у 1-2 тижні, використовуючи для цього 50% розчин цукру, до якого додавали препарат «Апіплазма» у різних концентраціях. В другій половині березня та в першій половині квітня температура навколишнього середовища коливалась від -5 до +5 °С. В 20-х числах травня температура вдень досягала +15°С. Загальна кількість бджіл у вулику, площа посіву розплodom оцінювалась візуально за загально прийнятим методом на початку, на 8-й та на 60-й день досліду.

Оцінка весняного темпу розвитку бджолосімей показала, що він суттєво зростав у дослідних групах порівняно з контрольною (підгодівля цукровим сиропом без додавання препарату «Апіплазма»). Зокрема, інтенсивність зростання площі розплodu за досліджуваний період у дослідних групах бджолосімей середньої сили була в середньому в 4,7 рази, а у бджолосімей слабкої сили – в 2 рази вище, ніж у контрольній групі.

Засів стільника маткою у дослідних групах проходив за 1-3 дні, тоді як у контрольній – за тиждень. Слід зазначити, що у контрольних бджолосім'ях матка не докладала яйця, бджоли не дотягували вошину стільників, тоді як в дослідних групах матка йшла від краю до краю стільника і повністю його «засівала». Виявлено, що матки дослідних груп закривали розплodom всю площу стільника, за винятком комірок, зайнятих пергою та медом. В той же час в контрольних сім'ях матка відкладала яйця не суцільно: серед розплodu на стільнику зустрічались порожні або погризені комірки.

Погіршення погодних умов (нічні заморозки) у контрольній групі бджолосімей викликало повне припинення відкладання яєць маткою. У дослідних сім'ях при таких низьких температурах хоч і відбувалось зменшення інтенсивності відкладання яєць маткою, проте сам процес не припинявся. В період відсутності взятку в результаті дощової погоди та низької температури (кінець травня, похолодання вночі до 8-10 °С) матки продовжували «сіяти» (відкладати яйця) на відміну від групи, яка не вживала досліджуваний препарат. Масовий вихід бджіл зі стільників у

піддослідних бджолосім'ях відбувся рівно на 22-й день від початку підгодівлі сімей препаратом. В контрольних сім'ях такого масового виходу не спостерігалось – він був розтягнений на тиждень, починаючи з 22 дня.

Отже, використання препарату «Апіплазма» під час весняної підгодівлі бджолосімей призводить до суттєвого прискорення темпу їх весняного розвитку – як за рахунок збільшення відкладання яєць маткою, так і ретельності вирощування розплоду, що зумовлює збільшення кількості молодої бджоли, отриманої з кожного яйця відкладеного маткою. Швидкий весняний розвиток бджолосімей під впливом досліджуваного препарату «Апіплазма» дозволить пасічникам почати формувати пакети з розплодом на продаж значно раніше, ніж зазвичай та швидше нарощувати силу колоній бджіл до ранніх медозборів.

4. КЛІТИННА БІОЛОГІЯ 4. CELL BIOLOGY

КОМБІНОВАНА ДІЯ ЦЕФТРИАКСОНУ ТА ОФЛОКСАЦИНУ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ШТАМІВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ВИДІЛЕНИХ З УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ

Білоцерківська Олена, Скляр Тетяна
Дніпровський національний університет ім. О. Гончара, Дніпро,
Україна
lena96dp@gmail.com microviro@ukr.net

COMBINED ACTION CEFTRIAXONE AND OFLOXACIN AGAINST *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS ISOLATED FROM THE UROGENITAL TRACT

Bilotserkivska Olena, Sklyar Tetyana
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Today there is a rapid increase in diseases caused by multidrug-resistant strains of bacteria. According to recent data, monotherapy does not achieve the desired effect in treatment. One of the alternatives is the combined action of antimicrobial drugs.

На сьогодні спостерігається стрімке збільшення захворювань, викликаних полірезистентними штамми бактерій. До їх появи призвело надмірне використання антибактеріальних препаратів протягом останніх десятиліть. За останніми даними, монотерапія не дозволяє досягти необхідного ефекту при лікуванні. Одним із альтернативних варіантів є комбінована дія антимікробних препаратів.

Одна із найвикористовуваниших комбінацій антибіотиків по відношенню до представників ентеробактерій – поєднання бета-лактамів з фторхінолонами. Її висока ефективність пояснюється механізмом дії складових компонентів – бета-лактами руйнують клітинну стінку, що полегшує проникнення всередину бактерії фторхінолонів, що руйнують ДНК-гіразу.

Метою нашої роботи було дослідження чутливості 6 штамів *Klebsiella pneumoniae* до антибактеріальних препаратів. Відповідно до мети були поставлені такі завдання: визначити МІК досліджуваних антибіотиків (цефтріаксон, офлоксацин) при ізольованому застосуванні і в комбінаціях.

Чутливість виділених антибіотикорезистентних штамів *Klebsiella pneumoniae*, виділених з уrogenітального тракту, до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом, а МІК антибіотиків методом серійних розведень.

Серед 6-ти штамів *Klebsiella pneumoniae*, виділених з уrogenітального тракту, виявили: один екстрарезистентний (XDR) штам №2 та два мультирезистентні (MDR) штами №4 і №5.

Згідно з результатами дослідження, МІК цефтріаксону по відношенню до MDR штамів відповідає затвердженим мінімальним табличним нормам (64 мкг/мл для штаму №4) або більше за них у 2 рази (128 мкг/мл для штаму №5), до XDR штаму МІК більше у 4 рази і становить 256 мкг/мл. МІК офлоксацину по відношенню до MDR штамів становлять 8 і 32 мкг/мл відповідно, а по відношенню до XDR штаму – 64 мкг/мл.

Що стосується МІК антибіотиків у комбінаціях, то МІК цефтріаксону і офлоксацину зменшилися порівняно з МІК цих антибіотиків при ізольованому застосуванні у 4 рази для MDR штамів №4 і №5 (МІК цефтріаксону – 16 і 32 мкг/мл відповідно, а МІК офлоксацину – 2 і 8 мкг/мл), а по відношенню до XDR штаму № 2 МІК цефтріаксону зменшилася у 2 рази, у той час як МІК офлоксацину – у 4 рази (128 мкг/мл і 16 мкг/мл відповідно).

Таким чином, при комбінованому застосуванні МІК цефтріаксону зменшилися у 4 рази по відношенню до MDR штамів і у 2 рази по відношенню до XDR штаму. МІК офлоксацину в комбінаціях із цефтріаксоном зменшилися у 4 рази по відношенню до MDR і XDR штамів.

Отже, комбінована дія цефтріаксону та офлоксацину є ефективною по відношенню до полірезистентних штамів *Klebsiella pneumoniae*, виділених з уrogenітального тракту.

ВПЛИВ ПЛАЗМІНОГЕН-ПЛАЗМІНОВОЇ СИСТЕМИ НА ЛІНІЇ КЛІТИН АДЕНОКАРЦИНОМИ ЛЕГЕНЬ A549

Андрій Воробйов¹, Артем Тихомиров²

¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
Дніпро, Україна, dazhbog0@gmail.com

INFLUENCE OF PLASMINOGEN-PLASMIN SYSTEM ON CELL LINE ADENOCARCINOMAS OF LUNGS A549

Andrey Vorobyov¹, Artem Tykhomirov²

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Cancer is one of the most dangerous pathologies today. Therefore searching for ways to increase vulnerability of cancer cells to organism defense mechanisms such as apoptosis seems to be perspective way of therapy of cancer. It was found that plasminogen-plasmin system can affect the secondary tumor growth, specifically, angiogenesis of the tumor.

Обґрунтування та мета. Рак є однією з найнебезпечніших патологій сьогодення, тому пошук засобів, спрямованих на підвищення чутливості злоякісних клітин до апоптозу (апоптозу), вбачається перспективним напрямом терапії злоякісних новоутворень. З цих позицій дослідження механізмів, які забезпечують здатність злоякісних клітин уникати апоптозу, викликані протеїнами системи активації плазміногену, є вкрай необхідними. Плазміноген/плазмінова система забезпечує розчинення фібринових згустків і підтримує гемостатичний баланс крові. В останні два десятиріччя розвиток технологій інактивації генів, виведення трансгенних мишей з дефіцитами певних протеїнів і великий експериментальний матеріал при роботі з різноманітними лініями клітин дозволили встановити, що окрім вищезазначених функцій, плазміноген-плазмінова система також виконує інші різноманітні функції як в нормальних так і в патологічних умовах і приймає участь в таких процесах, як ремоделювання тканин, репродукція, ангіогенез, запалення, інвазія клітин пухлини та ін. Тому мета моєї роботи дослідити вплив плазміноген-плазмінової системи на ракові клітини аденокарциноми лінії A549

Методи. Клітини культивували при 37 °С в атмосфері 5% CO₂ у поживному середовищі DMEM у 100 см³ чашках. Інкубацію з плазміногеном або ангіостатином досліджуваних клітин розпочинали за умов досягнення ними конфлюентності не менш 80 %. Перед дослідом середовище видаляли, клітини відмивали стерильним PBS та переводили на DMEM, що не містив ФБС, додаючи плазміноген у концентраціях 0,1 – 1,0 μМ. Після закінчення терміну експерименту досліджували морфологію клітин за допомогою світлового мікроскопу, відбирали кондиційне середовище та тричі промивали адгезовані клітини за допомогою

стерильного ЗФР. Клітини, що відокремились від поверхні пластика осаджували центрифугуванням при 500 g 10 хв. за 4 °С. Клітини лізували у RIPA-буфері, який містив 0,05 М трис-НСl (рН 7,4), 0,15 М NaCl, 0,1 % SDS, 1 % Triton X-100, 1 % NP-40, 5 mM EDTA та коктейль інгібіторів фосфатаз та протеаз, доданий у кількості. Клітини знімали шкребком, лізати переносили до пластикових пробірок та центрифугували при 16000 g протягом 45 хв. за 4 °С. Концентрацію загального протеїну визначали за методом Stoscheck. Супернатанти лізатів клітин та зразки культурального середовища змішували з буфером для нанесення на електрофорез. Також у дослідження використовувалися методи імуноблотингу та імуноцитохімії. Статистична обробка даних здійснювалася за непараметричним критерієм Мана-Уїтні.

Результати. Клітини лінії А549 (аденокарцинома легень) конвертують нативний Глу-плазміноген на плазмін за умов культивування *in vitro*. Інкубування клітин А549 з плазмін(оген)ом протягом 24 годин індукує зміни морфології клітин та спричинює втрату клітинами А549 адгезивності. Плазміноген у діапазоні концентрацій 0,005 – 1,0 мкМ не чинить цитотоксичної дії на клітини аденокарциноми, тоді як концентрація плазміногену 1,0 мкМ є цитотоксичною для нетрансформованих фібробластів 3Т3. Плазміноген у концентрації 0,1 – 1,0 мкМ сприяє зменшенню рівня проапоптотичних регуляторних протеїнів та інгібіторів клітинного циклу. Припускається, що встановлені зміни можуть сприяти виживанню клітин після втрати ними адгезивності та спрямовані на уникнення ними апоптозу/аноїкісу.

Встановлено, що клітини аденокарциноми є ангіостатин-продукуючими клітинами. За умов культивування клітин А549 з Глу-плазміногеном (0,1 – 1,0 мкМ) відбувається його фрагментація з утворенням продуктів обмеженого протеолізу, які за молекулярною масою (55-28 кДа) можуть відповідати ангіостатинам К1-4,5, К1-4 та К1-3.

Висновки. В проведеному дослідженні були з'ясовані механізми захисту аденокарциноми від апоптозу, вплив плазміногену на виживання клітин А549. Результати дослідження розкривають молекулярні механізми уникнення раковими клітинами апоптозу, що дає можливість розробки препаратів, які будуть в змозі зупинити розвиток раку, або навіть елімінувати саму пухлину.

ХАРАКТЕРИСТИКА H^+ - Ca^{2+} -ОБМІННИКА У ВНУТРІШНІЙ МЕМБРАНІ МІТОХОНДРІЙ

Ганна Данилович, Юрій Данилович, Сергій Костерін
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
danylovychanna@ukr.net

CHARACTERISTICS OF H^+ - Ca^{2+} -EXCHANGER IN THE INNER MEMBRANE OF MITOCHONDRIA

Hanna Danylovych, Yuriy Danylovych, Sergiy Kosterin
Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine

It is established that H^+ - Ca^{2+} -exchanger in the mitochondrial inner membrane of the uterus smooth muscle cells takes place with the participation of LETM1 protein, accompanied by a decrease in Ca^{2+} concentration in the matrix with simultaneous its acidification, carried out in stoichiometry 1:1, activated by physiological pH values and regulated by calmodulin.

Обґрунтування та мета. Фізіологічна роль іонів Ca в мітохондріях обумовлена їхнім значенням в регуляції фундаментальних біологічних процесів, що протікають в органелах і забезпечують життєдіяльність клітини: синтез АТР, енергетичний метаболізм, частина реакцій циклу сечовини, синтез стероїдних гормонів, підтримка Ca^{2+} -гомеостазу клітини тощо. У внутрішній мітохондрійній мембрані гладеньком'язових клітин матки локалізовані системи, які підтримують Ca^{2+} -гомеостаз в органелах, зокрема структури, що забезпечують енергозалежну акумуляцію Ca^{2+} до матриксу; припускають також наявність ΔpH -опосередкованого транспорту Ca^{2+} . Остання транспортувальна система вивчена недостатньо. Тому метою досліджень була ідентифікація та вивчення біохімічних особливостей H^+ - Ca^{2+} -обміну в мітохондріях міометрія.

Методи. В роботі було використано методи препаративної біохімії, спектрофлуориметрії (із використанням спектрофлуориметра Quanta Master 40 РТІ (Канада) із програмним забезпеченням FelixGX 4.1.0.3096), фотонної кореляційної спектроскопії (прилад ZetaSizer-3 (Malvern Instruments, Велика Британія) з корелятором Multi8 computing correlator type 7032 се, який облаштований гелій-неоновим лазером ЛГН-111 з довжиною хвилі 633 нм і потужністю 25 мВт. Дослідження проводили на білих нелінійних самках щурів. Фракцію мітохондрій міометрія виділяли методом диференційного центрифугування.

Результати. З використанням Ca^{2+} -чутливого зонда Fluo-4 AM та рН-чутливого зонда BCECF-AM було продемонстровано одночасне вивільнення Ca^{2+} із мітохондрій, акумульованого в енергозалежному процесі, та закислення матриксу при зниженні позамітохондрійного рН. При закисненні середовища (рН 7,5-6,0) суттєво посилюється вихід Ca^{2+} з

мітохондрій. Молекулярною структурою, яка забезпечує функціонування H^+ - Ca^{2+} -обмінника у мітохондріях ряду клітин, виступає протеїн LETM1, що асоційований із протеїновим комплексом масою 300-500 кДа внутрішньої мембрани. Нами показано, що ΔpH -залежне вивільнення Ca^{2+} з мітохондрій ефективно пригнічується моноклональними антитілами проти протеїну LETM1.

Динаміка ΔpH -індукованого виходу Ca^{2+} , проаналізована за зміною флуоресценції Fluo-4 AM, який тестує вміст іонізованого Ca^{2+} в матриксі, задовольняє кінетичним закономірностям реакції першого порядку. Розрахована нами в координатах Хілла $\{lg[(V_{max}-V_0)/V_0]; pH\}$ константа активації за протонами pK_a складає $6,9 \pm 0,1$, що свідчить про можливість функціонування системи H^+ - Ca^{2+} -обміну за фізіологічних значень pH. Величина коефіцієнта Хілла (n_H) наближається до одиниці, що вказує на стехіометрію обміну 1:1, тобто електрогенність даної транспортувальної системи.

За умови попередньої енергозалежної акумуляції Ca до матриксу закислення середовища інкубації мітохондрій від 7,5 до 6,5, тобто створення умов для ефективного функціонування H^+ - Ca^{2+} -обмінника, супроводжувалось суттєвим зниженням величини їхнього об'єму, оціненого методом фотонної кореляційної спектроскопії. Ініціація ΔpH -залежного вивільнення Ca^{2+} супроводжується одночасним переміщенням асоційованих з іонами Ca молекул води з матриксу, що може бути причиною зменшення досліджуваного параметра.

Транспортувальні ензими мітохондрій можуть підлягати регуляторному впливу комплексу Ca^{2+} -кальмодулін. Нами виявлено, що антагоніст кальмодуліну 10 мкМ кальмідозоліум практично повністю блокує ΔpH -залежний вихід Ca^{2+} з ізольованих мітохондрій. Інший антагоніст 100 мкМ трифлуоперазін, навпаки, спричинював більш швидкий початковий вихід Ca^{2+} з матриксу, але не впливав на платовий рівень флуоресценції Fluo-4 AM: початкова швидкість транспорту зростала, а характеристичний час напіввиходу катіону зменшувався. Тобто дія трифлуоперазину, як більш м'якого антагоніста кальмодуліну, менш виражена ніж кальмідазоліуму. Трифлуоперазін, згідно даних літератури, лише знижує ефективність взаємодії кальмодуліну з транспортувальною системою, тоді як кальмідазоліум діє на комплекс кальмодуліну з нею, гальмуючи її розпад (виступаючи неконкурентним інгібітором), а також має більший афінитет до кальмодуліну. Ці дані непрямо свідчать, що кальмодулін виступає негативним регулятором H^+ - Ca^{2+} -обмінника.

Висновки. Таким чином, внутрішня мітохондрійна мембрана містить крім енергозалежної акумуляції Ca^{2+} в матрикс, також і механізм транспорту іонів Ca з матриксу у міоплазму, причому в основі останнього процесу лежить функціонування H^+ - Ca^{2+} -обмінника, який репрезентований

протеїном LETM1. Ця транспортувальна система може регулюватися комплексом Ca²⁺-кальмодулін.

EXTRACELLULAR VESICLES PRODUCED BY HUMAN EMBRYONIC KIDNEY HEK293 CELLS WITH UP-REGULATION OF ADAPTOR PROTEIN Ruk/CIN85 ARE CHARACTERIZED BY CHANGED PROTEIN COMPOSITION

**Artem Zhyvolozhnyi^{1,2}, Liudmyla Drobot¹, Seppo J. Vainio²,
Anatoliy Samoylenko²**

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

²Faculty of Biochemistry and Molecular Medicine, Biocenter Oulu, InfoTech
Oulu, University of Oulu, Finland

ppndl2@gmail.com

Small sized extracellular vesicles (sEVs, 40-160 nm in diameter) are secreted by most cell types under both physiological and pathological conditions and were proposed to be actively involved in intercellular communication. In the process of carcinogenesis, they play an important role in tumor initiation, recurrence, metastasis and therapeutic resistance. The mode of sEVs action is dependent on their cargos composition including proteins, DNA, mRNA, microRNA, long noncoding RNA, etc. They are thought to derive from intraluminal vesicles formed in the late endosomal multivesicular bodies (MVBs). There are data that sEVs marker proteins Alix and Tsg101, involved in the formation of MVBs, as well as cortactin, which stimulates the secretion of sEVs, are the binding partners of adaptor protein Ruk/CIN85. In addition, we have shown previously that up-regulation of Ruk/CIN85 in low invasive human breast adenocarcinoma MCF-7 cells is followed by their malignization. Taking into account these data, the main aim of our study was to elucidate the features of biogenesis of sEVs produced by human embryonic kidney HEK293 cells overexpressing GFP-Ruk/CIN85 and their protein composition as well as the ability to modulate the proliferation potential of parental HEK293 cells.

HEK293 cells were cultured under standard conditions in DMEM medium at 37°C in CO₂ incubator. To obtain GFP-Ruk/CIN85-overexpressing cells (GFP-RukUp), HEK293 cells were transfected with EGFP-Ruk plasmid encoding GFP-Ruk/CIN85 or empty vector using Lipofectamine 2000 reagent followed by the selection of stable transfectants in the presence of Geneticin. sEVs were isolated by concentration of serum/debris free conditioned medium with Centricon Plus-70 columns followed by ultracentrifugation at 100 000g, 4°C for 15 h with further purification using Exo-spin™ kit (Cell Guidance Systems). The number and size of sEVs were characterized by NTA (Malvern

Panalytical NanoSight NM300) instrument, equipped with a 405 nm laser, and transmission electron microscopy. The protein composition of sEVs was studied by Western-blotting and mass spectrometric analysis (LC-EXI-MS/MS).

According to the results of our research, we did not find statistically significant differences in the average particle size and their morphology in isolated samples of sEVs. At the same time, the concentration of sEVs isolated from HEK293/GFP-RukUp cells increased by an order of magnitude compared to control HEK293 cells. By using Western-blot analysis, GFP-Ruk/CIN85 was detected in extracellular vesicles produced by HEK293/GFP-RukUp cells. In addition, the content of the marker of sEVs, protein CD81, increased significantly in extracellular vesicles produced by HEK293 cells overexpressing GFP-Ruk/CIN85. The important feature of sEVs secreted by HEK293/GFP-RukUp cells was the increased ability (more than 2 times) to stimulate the proliferation rate of parental cells compared to sEVs isolated from control mock-transfected cells. The results obtained suggested that adaptor protein Ruk/CIN85 is not only the component of sEVs but also can modulate the biological activity of sEVs in relation to neighboring cells.

It is known, that the modulatory potential of sEVs is dependent on their cargos composition. The protein composition of cell lysates and isolated sEVs from HEK293 cells with different levels of Ruk/CIN85 expression was investigated by mass spectrometric analysis. More than two thousand proteins have been identified in cell lysates, and more than a thousand proteins in sEVs preparations. 69.8% (1428) of the identified proteins were common to both lysates from HEK293 mock-transfected cells and lysates from HEK293 cells with overexpression of GFP-Ruk/CIN85. 14.9% (305) and 15.3% (314) of proteins were found only in lysates of HEK293 Mock or HEK293/RukUp cells, respectively. 63.0% (712) of the identified proteins were common to both sEVs preparations, while 14.6% (165) and 22.4% (253) of proteins were found only in sEVs of HEK293 mock-transfected or HEK293/RukUp cells, respectively. The presence of Ruk/CIN85 was confirmed in cell lysates and in sEVs preparations derived only from cells with overexpression of GFP-Ruk/CIN85. Mass spectrometric analysis also confirmed the presence in extracellular vesicles of a number of markers of sEVs: CD81, CD9, TSG101, annexin A5, and tetraspanin-6 proteins. The data were analyzed using PANTHER (Protein Analysis Through Evolutionary Relationships) software to illustrate the classes of identified proteins. As it turned out, most proteins identified only in lysates of cells with overexpression of GFP-Ruk/CIN85 belong to oxidoreductases, transferases, hydrolases, and nucleic acids binding proteins. In the next step, the features of the protein composition of sEVs dependent on the overexpression of Ruk/CIN85 in HEK293 cells were analyzed. It was demonstrated that most of the identified proteins belong to transferases, hydrolases, transporters and enzyme modulators.

Taken together the results obtained, we can draw the following conclusions: (i) adaptor protein Ruk/CIN85 is a newly identified component of sEVs produced by tumor cells; (ii) Ruk/CIN85 is involved in modulation of sEVs protein composition that influences their potential to modulate intercellular communication and biological responses of recipient cells.

ВПЛИВ СИНТЕТИЧНИХ ФОТОСТАБІЛЬНИХ ПІРЕТРОЇДІВ НА АДГЕЗІЮ ТА ПРОЛІФЕРАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕЗЕНХІМНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН МИШЕЙ C57BL/6 IN VIVO

**Лариса Кладницька, Анатолій Мазуркевич, Володимир
Духницький, Віктор Томчук, Олена Гальчинська, Микола Малюк,
Віталій Ковпак, Сергій Величко, Василь Данілов, Юрій Харкевич,
Роман Бокотько, Тарас Савчук**

Національний університет біоресурсів і природокористування
України, Київ, Україна, kladlarisa@ukr.net

INFLUENCE OF SYNTHETIC PHOTOSTABLE PYRETROIDS ON ADHESION AND PROLIFERATIVE PROPERTIES OF MESENCHYMAL STEM CELLS OF C57BL/6 MICE IN VIVO

**Larysa Kladnytska, Anatoliy Mazurkevych, Volodymyr Dukhnytsky, Victor
Tomchuk, Olena Halchynska, Mykola Malyyuk, Vitaly Kovpak, Sergiy Velychko, Vasyl
Danylov, Yuriy Kharkevych, Roman Bokotko, Taras Savchuk**

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

It was found that 0.001% aqueous solution of neostomazan has a toxic effect in vivo on the mesenchymal stem cells of red bone marrow culture of mice C57Bl/6. The primary material obtained from the red bone marrow of C57Bl/6 mice treated with 0.001% aqueous neostomazan solution does not contain the adhesive fraction of mononuclear cells with high proliferative activity.

Обґрунтування та мета. Застосування лікарських речовин має суттєвий вплив на цілісний організм, і, відповідно, на стовбурові клітини. Синтетичні фотостабільні піретроїди – трансмікс і тетраметрин, які входять до складу Неостомазану, порушують процес обміну йонів натрію і кальцію у клітинах, деполіаризують мембрану, пролонгують відкриття каналів для натрію, а також мають високу ліпофільність. За результатами досліджень [Oliveira M.S., 2014, Bashiri Dezfouli A., 2017], Доксорубіцин активно зв'язується з мембранними ліпідами, впливає на зміну морфології, поверхневих маркерів, зниження диференціації, швидкості росту МСК, утворення лужної фосфатази, а також впливає на кістковий мозок та міокард, індукує апоптоз ракових клітин, вкорочення їх теломер. Отже,

метою наших досліджень було визначення впливу водного розчину Неостомазану на мезенхімні стовбурові клітини мишей лінії C57 Bl/6 *in vivo*.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на самцях мишей лінії C57 Bl/6. Перша група включала мишей C57Bl/6, яких купали в водному розчині неостомазану, друга група була сформована з мишей, яких купали у воді без Неостомазану (ефект плацебо); третя група – контроль.

Отримували аспірат кісткового мозку мишей дослідних груп та проводили його культивування в одноразовому пластиковому посуді у поживному середовищі DMEM з додаванням 10-15 % фетальної сироватки бичків, 1 % антибіотика-антиміотику у CO₂ інкубаторі HERACELL (Німеччина) за температурного режиму 37° C, 5 % вмісту CO₂. Культуральне середовище частково або повністю замінювали на свіже кожні 72 години.

За культивування клітин досліджували адгезію клітин до культурального посуду, формування колоній та визначали індекс проліферації. Адгезію, утворення колоній та моношару досліджували за допомогою інвертного мікроскопа Axiovert 40. Експресію антигенів зразків мезенхімних стовбурових клітин червоного кісткового мозку проводили на лазерному проточному цитофлуориметрі FACScan Calibur (Becton Dickinson, США) з використанням програми збору та обробки даних Lysis II та комп'ютерного оснащення Hewlett Packard 340 (HP, США).

Результати досліджень. На другу добу культивування культури клітин червоного кісткового мозку усіх груп ми реєстрували округлені клітини в суспензії, які не були адгезовані до культурального посуду. На третю добу культивування у культурах клітин червоного кісткового мозку 2- і 3-ої груп між клітинами в суспензії з'являлися проміжки, які виникали внаслідок зміщення їх адгезованими клітинами. Такі мікроскопічні зміни в культурі клітин свідчать про адгезію колонієутворюючих одиниць до чашок Петрі. Натомість, у культурі клітин червоного кісткового мозку першої групи ніяких змін ми не виявили. Клітини знаходились у суспензії і процесу адгезії ми не зареєстрували. Первинна культура червоного кісткового мозку мишей 2- і 3-ої груп на 4-5-ту добу культивування характеризувалася збільшенням чисельності адгезованих колонієутворюючих одиниць. На 6-12-ту добу культивування ми зареєстрували активну проліферацію адгезованих клітин навколо колонієутворюючих одиниць у культурі 2- та 3- груп та формування моношару. У культурі клітин дослідів 1 адгезії клітин до культурального посуду не відбулося до кінцевого терміну культивування. Це засвідчує відсутність моноклеарних клітин з високими адгезивними властивостями у аспіраті червоного кісткового мозку тварин, оброблених водним розчином Неостомазану. На клітинах культури червоного

кісткового мозку першого пасажу спостерігалась експресія $12,41 \pm 0,15$ % при визначенні антигену CD34⁺; $13,61 \pm 0,14$ % – CD117⁺ і $13,27 \pm 0,11$ % – CD90⁺. На четвертому пасажі культивуванні кількість CD34⁺ та CD117⁺ клітин становила $7,17 \pm 0,15$ % ($p < 0,05$) та $9,12 \pm 0,13$ %, відповідно ($p < 0,05$ у порівнянні з клітинами першого пасажу). Тоді, як кількість CD90⁺ клітин зростала до $35,31 \pm 0,12$ % ($p < 0,01$). Такі зміни пов'язані зі зниженням гетерогенності культури клітин у процесі культивування.

Висновки. Синтетичні фотостабільні піретроїди у складі 0,001 % водного розчину Неостомазану чинять токсичну дію *in vivo* на мезенхімні стовбурові клітини культури червоного кісткового мозку мишей C57 Bl/6. Первинний матеріал, отриманий від мишей C57 Bl/6, оброблених 0,001 % водним розчином Неостомазану не містить адгезивної фракції моноклеарних клітин з високою проліферативною активністю.

ДІЯ ЦИТРАТУ ВАНАДІЮ НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ САМЦІВ ТА САМОК ЩУРІВ

Ганна Климець, Руслана Іскра
Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна
klimets.halyna@gmail.com

THE EFFECT OF VANADIUM CITRATE ON HEMATOLOGICAL INDICATORS OF MALE AND FEMALE RATS Hanna Klymets , Ruslana Iskra

Vanadium compounds normalize glucose level and hematopoiesis. In blood of female and male rats under the effect of vanadium citrate, dose-dependent increase of erythrocytes and hemoglobin concentration was found, but level of leukocytes and glucose decreased. No significant differences between hematological parameters of both sexes were found.

Обґрунтування та мета. Сполуки ванадію здатні нормалізувати рівень глюкози і запобігати апоптозу β -клітин острівців підшлункової залози у щурів із діабетом. Ванадій може зменшувати деформованість еритроцитів, що зумовлює затримку їх в ретикулоендотеліальній системі селезінки і, як наслідок, швидше виведення з кровотоку. Також він діє на рівень попередника гемоглобіну в сироватці крові, що опосередковано впливає на властивості гемоглобіну. Ванадій зумовлює нормалізацію імунної ланки організму. Однак механізм дії ванадію на гематологічні параметри в організмі самців та самок все ще вимагає з'ясування, що і визначило мету дослідження.

Методи. Дослідження проведено на щурах, які в пре- та постнатальний період до 37 доби споживали розчин цитрату ванадію у концентраціях 0,03 (II група), 0,125 (III група) і 0,5 мкг V/мл (IV група).

Щурі, які не споживали розчин цитрату ванадію вважали за контроль (I група). Матеріалом для дослідження була цільна кров самців та самок щурів. Вміст еритроцитів та лейкоцитів рахували в камері Горяєва, концентрацію гемоглобіну – набором «Гемоглобін Агат», глюкозу визначали глюкозооксидазним методом.

Результати. У крові самок щурів було встановлено зростання кількості еритроцитів у IV групі (43 %) та концентрації гемоглобіну у III (23 %) і IV (28 %) групах, порівняно з контролем. Очевидно, це може бути зумовлено еритропоетичним впливом цитрату ванадію. У досліджуваних дозах встановлено зниження кількості лейкоцитів у крові самок трьох дослідних груп: у II – на 34 %, у III – на 51 % та IV – на 48 %. Це може вказувати на протизапальні властивості цитрату ванадію. Крім цього, в крові самок III групи знижувалася концентрація глюкози на 17 %, що може бути зумовлено інсуліноміметичною дією Ванадію, яка стимулює її надходження у клітини.

Подібні зміни відбувалися і в крові самців щурів за дії цитрату ванадію у різних дозах. Зокрема, в крові самців встановлено зростання кількості еритроцитів у III групі на 29 %, у IV – на 50,54 % та концентрації гемоглобіну у IV групі на 16 %, порівняно з контролем. Крім цього, в крові самців II (32 %) та IV (36 %) груп виявлено зниження кількості лейкоцитів, та концентрації глюкози – у II та III групах на 22 % і 40 % відповідно, порівняно з контролем.

Висновки. У крові самок і самців щурів за дії цитрату ванадію встановлено дозозалежне зростання кількості еритроцитів та концентрації гемоглобіну, однак зниження кількості лейкоцитів та концентрації глюкози, порівняно з контролем. Суттєвих відмінностей між гематологічними показниками обох статей не було відмічено.

METABOLIC STATE OF HUMAN MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN THREE-DIMENSIONAL ALGINATE MICROSPHERES

Nemyrovska Yu.^{1,2}, Trufanova N.¹, Kot Yu.², Petrenko O.^{1,2}

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National
Academy of Sciences, Kharkiv, Ukraine

2 V. N. Karazin National University, Kharkiv, Ukraine

yulianemyrovska@gmail.com

The creation of alginate microspheres, which contain mesenchymal stromal cells (MSCs), contributes to the preservation of cell viability and is therefore a promising approach in biotechnology and regenerative medicine. MSCs are fibroblast-like cells, which are characterized by adhesive properties to the plastic surface under standard monolayer culture conditions. However, when

placed in alginate microspheres (AMS), the cells are peculiarity by an uncharacteristic spherical shape, which does not change with prolonged cultivation. MSC enclosed in AMS are feature by lower metabolic activity and the value of mitochondrial membrane potential compared to cells growing under monolayer conditions. Currently, there are technologies that allow to dissolve the core of alginate gel within the microsphere, while maintaining its integrity and stability. The shape and properties of MSCs in the composition of such microspheres with a liquid core remain poorly understood. The technology of encapsulation of cells in AMS provides their effective immobilization within the polymer matrix, which does not limit the bilateral diffusion of oxygen and carbon dioxide molecules, nutrients, growth factors, but prevents the penetration substances with molecular weight over 100 kDa. When using the technique of electrospray for the formation of AMS with MSCs cells are exposed to additional factors. This necessitates the study of cell viability and their properties after encapsulation procedure.

The aim of this work was to study the viability and metabolic activity of MSCs within three-dimensional alginate microspheres with liquid and solid core.

Adult human dermal MSCs were isolated according to ethical guidelines and expanded in standard monolayer conditions. Cell immobilization was performed by “encapsulation” in alginate-calcium microspheres using the electrospray device. After immobilization in alginate microspheres cell viability, morphology and metabolic activities were investigated using combined fluorescein diacetate (FDA) and ethidium bromide (EB) staining, redox indicators MTT and Alamar Blue (AB) tests.

MSCs encapsulated in a solid-core AMS were evenly distributed throughout the AMS and kept spherical shape. Cells did not form clusters. MSCs in AMSs with a liquid core immediately after hydrogel polymerization were concentrated in the inner core and had a denser localization. During subsequent cultivation for 5 days, it was possible to observe the formation of additional small spheroids and an increase their size. FDA/EB staining revealed that on day 5 of cultivation most of the cells in the AMS with solid core were green. Multicellular spheroids in AMS with a liquid nucleus were also characterized by predominantly green fluorescence after 5 days of cultivation. MTT test showed that the functional state of intracellular mitochondria did not change during culturing of MSCs in the AMS both with liquid and solid cores. The results indicate that cells in alginate microspheres are viable. AB test demonstrated that metabolic activity of MSCs encapsulated in the AMS with solid core reduced during culturing. Thus, on the 1st and 3rd days the levels of accumulation of reduced form of AB were on 23% and 38% lower than when culturing MSCs in a monolayer, respectively. While the metabolic activity of MSC in AMS with liquid nucleus increased by about 27% on the 3rd day of

culturing and maintained at the same high level and on the 5th day. The reason for the increase of metabolic activity is obviously cell proliferation in spheroids formed in AMS with liquid core.

Obtained data indicate that MSCs encapsulated in AMS with liquid and solid cores maintain the viability and mitochondrial function during culturing, whereas cell organization and metabolic activity can be regulated by physical properties of microenvironment within microspheres.

THE STUDY OF FIBROBLASTS TO MYOFIBROBLASTS DIFFERENTIATION POSSIBILITY BY EXTERNAL MECHANICAL STRAIN ACTION *IN VITRO*

**Anna Polonska, Yelyzaveta Siervatovska, Kateryna Kot, Yevhen Perskyi
Yurii Kot**

V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

kot.juriy@gmail.com

Mechanical stress is a crucial regulatory stimulus in processes of morphogenesis and adaptation of connective tissue cells *in vivo*. These processes would be impossible without the differentiation of fibroblasts in different periods of ontogenesis. But molecular mechanisms and the nature of the course of cell specialization under the action of mechanical stress, which is a constant factor in the influence of the environment on fibroblasts and their microenvironment, have not been studied yet.

Morphometric and metabolic parameters of fibroblasts differentiation – the spatial organization of the α -actin cytoskeleton, the number of focal adhesion complexes and the rate of their colocalization with α -actin, gene expression level, and content of cytoskeletal marker proteins: actin isoforms α (*Acta1*), β (*Actb*), γ (*Actg1*) and nexilin (*Nexn*) for determining the role of mechanical stimuli in cell differentiation processes were studied *in vitro*.

The study was performed on passage 3 fibroblasts from lung rats 3 months old. A monolayer of cells on an elastic substrate was subjected to static uniaxial mechanical stress for 6 hours, stretching the substrate by 0.1% of its length. The network organization of α -actin, the number of focal adhesion complexes, and the rate of their colocalization with actin in cells were evaluated immunochemically by fluorescence confocal microscopy. The analysis of the level of gene expression and protein content determination was performed on DNA and ELISA microarrays (Arrayit Corp).

It was revealed that the network of actin filaments of deformed cells was rearranged under the action of mechanical stress. We have seen the formation of new, longer cords, and focal adhesion complexes. At the same time, only two actin isoforms – β and γ , with the predominant part of β -isoform, are expressed

and accumulated in undeformed fibroblasts. Under conditions of mechanical stress in cells, synthesis is activated and the number of both these isoforms and α -isoform, which is not typical of non-muscle cells, significantly increases.

Firstly, this correlates with revealed changes in the actin network of deformed cells, because these long stress fibrils are considered the main place for γ -actin localization. Secondly, this correlates with the identification of increased gene expression and the amount of nexilin – cross-linker protein, which plays a key role in the polymerization of stress fibrils from γ -actin monomers. The formation of a branched network of extended stress fibrils along the stable edge of cells, increasing of focal adhesion complexes, and the rate of their colocalization with actin, together with the expression of its α -isoform suggests that fibroblasts differentiate into protomyofibroblasts and differentiated myofibroblasts under external mechanical stress.

КОМБІНОВАНА ДІЯ ДЕКАСАНУ З АНТИБІОТИКАМИ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ШТАМІВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ВИДІЛЕНИХ ІЗ РАНЕВИХ ПОВЕРХОНЬ

Олена Рудас, Тетяна Скляр

Дніпровський національний університет ім. О. Гончара, Дніпро,
Україна

[rudaslana22@gmail.com](mailto:rudaslena22@gmail.com) microviro@ukr.net

COMBINED ACTION OF DECASAN WITH ANTIBIOTICS AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS ISOLATED FROM WOUND SURFACES

Olena Rudas, Tetyana Sklyar

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

One of the most pressing problems of our time is the rapid spread of resistance to antibacterial drugs. Today monotherapy does not provide the desired effect, so the search for alternative strategies to overcome such infections, among which – the combined use of antibacterial drugs.

Однією із найактуальніших проблем сучасності є стрімке розповсюдження стійкості до антибактеріальних препаратів серед умовно-патогенних штамів бактерій. Захворювання, що викликані полірезистентними штамми, характеризуються важким перебігом, обов'язковою необхідністю госпіталізації, а також досить часто мають негативний вихід. На сьогодні монотерапія не забезпечує бажаного ефекту, тому ведеться пошук альтернативних стратегій подолання таких інфекцій, серед яких – комбіноване застосування антибактеріальних препаратів.

Комбінування антибактеріальних препаратів дозволяє досягти синергетичної дії за зменшених концентрацій препаратів.

Метою нашої роботи було дослідження чутливості 10 штамів *Pseudomonas aeruginosa*, виділених із раневих поверхонь, до антибактеріальних препаратів. Відповідно до мети були поставлені такі завдання: визначити МІК досліджуваних антибіотиків (цефтріаксон, офлоксацин, гентаміцин) та декасану при ізольованому застосуванні і в комбінаціях.

Чутливість виділених штамів *Pseudomonas aeruginosa* до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом, а МІК декасану та антибіотиків методом серійних розведень.

Серед 10-ти штамів *Pseudomonas aeruginosa* виявили: один панрезистентний (PDR) штам №3, екстрарезистентний (XDR) штам №5 та два мультирезистентні (MDR) штами №4 і №7.

Відповідно до даних дослідження, МІК цефтріаксону по відношенню до MDR штамів складає 64 мкг/мл, МІК цефтріаксону по відношенню до EDR штамів в 2 рази більше від затверджених мінімальних нормативів – 128 мкг/мл, а МІК до PDR штаму в 4 рази більше – 256 мкг/мл. Дослідні МІК гентаміцину та офлоксацину по відношенню до MDR штамів склали 1 і 2 мкг/мл відповідно, до XDR штаму – 4 мкг/мл, а до PDR штаму – 8 мкг/мл.

Показники МІК декасану при ізольованому застосуванні по відношенню до виділених штамів змінювалися в межах від 12,5 мкг/мл до 50 мкг/мл. Найвищі показники МІК спостерігались в штаму №3 (PDR) – 50 мкг/мл. Середні значення МІК декасану мали штами №5 (XDR) та №4 (MDR) – 25 мкг/мл.

Згідно з результатами досліджу, при комбінованому застосуванні МІК цефтріаксону, офлоксацину та гентаміцину зменшилися порівняно з МІК цих антибіотиків при ізольованому застосуванні по відношенню до штаму №7 (MDR) у 4 рази (16 мкг/мл), а гентаміцину та офлоксацину – у 2 рази (МІК гентаміцину 0,5 мкг/мл, МІК офлоксацину 1 мкг/мл по відношенню до MDR штамів, 2 мкг/мл по відношенню до EDR штаму і 4 мкг/мл по відношенню до PDR штаму).

Щодо декасану, то його МІК в комбінаціях з антибіотиками зменшувалися по-різному: по відношенню до PDR і XDR штамів – у 2 рази (25 мкг/мл і 12,5 мкг/мл відповідно), а що стосується MDR штамів, то по відношенню до штаму №7 в комбінаціях з цефтріаксоном й офлоксацином – у 2 рази (12,5 мкг/мл), в комбінації з гентаміцином – у 4 рази (6,25 мкг/мл); а по відношенню до MDR штамів МІК декасану в комбінації з антибіотиками зменшилися у 4 рази (6,25 мкг/мл).

Отже, при комбінованому застосуванні МІК цефтріаксону, офлоксацину, гентаміцину зменшувалися у 2-4 рази, а МІК декасану – у 2 рази по відношенню до PDR і XDR штамів і у 4 рази по відношенню до MDR штамів.

BENEFICIAL EFFECT OF MELATONIN ON BIOCHEMICAL PARAMETERS IN RAT HEART TISSUES UNDER CHRONIC HYPERGLYCEMIA

Hanna Pavlenko, Valeriia Kyrychenko, Svitlana Kyrychenko
Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine,
ganna1994pav@gmail.com

Nowadays diabetes mellitus is one of the global diseases. In course of time, chronic hyperglycemia causes a lot of complications such as diabetic encephalopathy, nephropathy, cardiomyopathy et al. Therefore, there is important to study possible medicines that can improve the condition of patients with diabetes mellitus. Oxidative stress arising in different tissues under chronic hyperglycemia cause development of pathological processes, especially in the nervous and cardiovascular systems. There are many studies about beneficial effect of melatonin on oxidative stress markers under different diseases. This study was performed to assess the cardioprotective effect of melatonin treatment under long-term hyperglycemia.

Adult Wistar rats weighting 230-250 g were randomly divided into 3 groups of 7 rats each: control; rats with streptozotocin-induced diabetes (STZD); STZD + melatonin 10 mg / kg (STZD+M). The induction of diabetes was performed by a single intraperitoneal administration of nicotinamide (Sigma-Aldrich, USA) at a dose of 230 mg / kg with next single intraperitoneal administration of streptozotocin (Sigma-Aldrich, USA) at a dose of 65 mg / kg 15 min later. Animals were kept in plastic cages under standard conditions, all manipulations were done according to the rules of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (1986). The blood glucose levels were measured using LiquickCor® reagents according to manufacturer's protocols. At the 45th day of the experiment animals were anesthetized and decapitated. 25mMTris of pH 7.4 was used to homogenate the heart tissue (100 mg of tissue per 1 ml of buffer) for 15 min at 3000g rpm. Supernatant was separated out for further study. The total protein concentrations were measured using the Bradford assay (1976). The thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) content was estimated using TBARS assay (Esteraauer and Cheeseman 1990). The activity of superoxide dismutase (SOD) was measured using superoxide depending quercetin oxidation method (Kostyuk et al., 1990). The catalase activity measurement was performed according to colorimetric method (Korolyuk et al. 1988). The pyruvate and lactate contents were measured calorimetrically. The activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were measured using LiquickCor reagents according to manufacturer's protocols. Statistical analysis of the results was done using the one-factor dispersion

analysis ANOVA. $P < 0.05$ was considered significant. There were no significant differences in pyruvate content between any of the groups. We determined reliable ($P < 0.05$) small decrease of lactate content in STZD+M group.

There was no significant difference in activities of ALT and AST in cardiac tissues between rats of the control and diabetic groups. Melatonin injections did not effect on AST activity, but there was a significant ($P < 0.01$) decrease of ALT activity in comparison with similar rats in other groups. Those results mean about some metabolic changes caused by melatonin treatment in heart tissues.

The TBARS content was significantly ($P < 0.05$) increased in the cardiac tissues of rats from STZD group compared with the control. Superoxide dismutase activity was significantly lower in comparison with control group ($p < 0.05$). There was also a significant ($P < 0.001$) decrease of catalase activity. The results indicate the development of oxidative stress in heart tissues under chronic hyperglycemia. Melatonin therapy promoted to significant ($P < 0.001$) reduction in the TBARS content. The activities of SOD and catalase were approximately equal to similar parameters in the control group. Thus, melatonin therapy is able to reduce the formation TBARS content preventing decreasing of antioxidant enzymes activities in heart tissues counteracting the oxidative stress development after long-term hyperglycemia.

In conclusion, melatonin counteracts development of diabetic complications in cardiovascular system. Previous results of similar studies about beneficial effect of melatonin and other antioxidants on oxidative stress in different tissues of the body prove huge potential as an effective medicine in complex treatment of diabetes mellitus and its complications. Thus, there is a necessity for further investigation of the complex long-term effect of melatonin on biochemical parameters under hyperglycemia conditions.

BENEFICIAL EFFECT OF MELATONIN ON OXIDATIVE STRESS MARKERS IN DIABETIC RAT LUNGS

Hanna Pavlenko, Svitlana Kyrychenko

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine,
ganna1994pav@gmail.com

Diabetes mellitus is one of major global health problem. Chronic hyperglycemia promotes oxidative stress arising which causes pathological changes leading to development of different diabetic complications (such as encephalopathy, retinopathy, nephropathy et al.). Numerous studies showed beneficial effect of melatonin therapy on oxidative stress biomarkers in some organs under different disorders. This study was performed to assess melatonin therapy effect on lungs in rats under experimental type 2 diabetes.

Adult male albino rats weighting 230-250 g were randomly divided into 3 groups of 7 rats each: control; rats with streptozotocin diabetes (STZD); STZD + melatonin 10 mg / kg (STZD+M). Animals have been kept under standard vivarium conditions, all manipulations were carried out according to the rules of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (1986). The induction of diabetes was done by a single intraperitoneal injection of nicotinamide 230 mg / kg (Sigma-Aldrich, USA) with next single intraperitoneal administration of streptozotocin (Sigma-Aldrich, USA) at a dose of 65 mg / kg 15 min later. The blood glucose levels were determined using glucose oxidase method (Trinder 1969). At the 45th day of the experiment animals were sacrificed after anesthesia. 25 mM Tris of pH 7.4 was used to homogenate the lungs tissue (100 mg of tissue per 1 ml of buffer) for 30 min at 3000g rpm. Supernatant was separated out for further study. The total protein content was estimated using the Bradford assay (1976). The thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) content was measured using TBARS assay (Esterbauer and Cheeseman 1990). The activity of superoxide dismutase (SOD) was estimated using superoxide depending quercetin oxidation method (Kostyuk et al., 1990). The catalase activity was measured according to colorimetric method protocol (Korolyuk et al. 1988). One-factor dispersion analysis ANOVA was used statistical analysis of the results. $P < 0,05$ was considered significant.

There is markedly increasing of TBARS ($P < 0.05$) content in STZD group. It means about increasing of lipid peroxidation (LPO) products in lungs tissues, which can lead to damage of cell membrane and its components. STZ-treatment also caused reliable decreasing of catalase activity ($P < 0.01$). SOD activity was non-significantly decreased in STZD group. The decline of antioxidant enzymes activity may cause significant elevation of reactive oxygen species (ROS) production leading redox disturbance. The results may show about the beginning of pathological changes and oxidative stress development in rat lungs.

Melatonin treatment caused significant decreasing of TBARS content ($P < 0.01$) in diabetic lungs. There were reliable increasing of CAT ($P < 0.001$) and SOD ($P < 0,05$) activities in comparison with STZD group. Thus, melatonin treatment led to reduction of oxidative stress development in lungs after long-term hyperglycemia.

In conclusion, melatonin treatment is able to prevent oxidative stress development in lungs tissues under chronic hyperglycemia and has huge potential as a possible component of anti-diabetic medicines in consideration of previous results of similar studies. Further research is necessary to study the complex effect of melatonin treatment under hyperglycemia conditions and its possible long-term effects in different organs of organism.

**СТУДЕНТСЬКЕ НАУКОВЕ ТОВАРИСТВО
КАФЕДРИ БІОХІМІЇ ТА ФІЗІОЛОГІЇ ДНУ**

**THE STUDENT’S SCIENTIFIC SOCIETY OF THE
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY**

Показчик авторів	Авторский указатель	Author`s index
Acikgoz S.	51	Klenina I. 94
Agca C.	51	Klys' Yu. 98
Alfonso-Prieto M.	22	Koenig B. 22
Anischenko A.	147	Kopilchuk G. 116
Baydas G.	51	Korshun R. 57
Bilousova T.	20	Kot K. 163
Bregestovski P.	22	Kot Yu. 161, 163
Brodyak I.	95	Kovalchuk Y. 64, 65
Burlaka Yu.	83, 98	Krysiuk I. 57, 59, 92
Cohn W.	20	Kucharska A. 95
Deeva Yu.	125	Kyrychenko S. 65, 166, 167
Didenko V.	94	Kyrychenko V. 166
Didur O.	147	Labudzynski D. 114
Diachenko L.	72	Latyshko N. 57, 59, 92
Dolhich H.	94	Lutay N. 108
Dovban O.	64	Luzina O. 39
Drobot L.	57, 59, 156	Lykholat Y. 147
Duka T.	21	Mackiv T. 145
Dukat V.	21	Maleeva G. 22
Dvoretzkyi A.	128	Martinyuk V. 145
Dzydzan O.	95	Maslak H. 94, 113
Formanchuk R.	145	Melnik M. 20
Gaponov O.	147	Minchenko D. 39
Gerashchenko D.	57	Minchenko O. 39
Gnatyshyna L.	145	Moroz A. 95
Gomila A.	22	Nagalievska M. 117
Gorostiza P.	22	Nedzvetsky V. 51
Gryn' N.	83, 98	Nemyrovska Yu. 161
Gyls K.	20	Netronina O. 113
Horak I.	57, 59	Nin-Hill A. 22
Hudkova O.	57, 59, 92	Obernikhina N. 30
Kalinin I.	132	Pasichna E. 114
Khita O.	39	Pavlenko H. 166, 167
Khoma V.	145	Peiretti F. 22
Khromykh N.	147	Peleshenko H. 113
Khudiakova O.	57, 59	Perskyi Y. 163
Kishko T.	57, 59, 92	Petrenko O. 161

Petryn N.	117	Білоцерківська О.	150
Plytus A.	116	Бойко М.	67, 75, 81
Polonska A.	163	Бокотько Р.	158
Popova N.	92	Бондаренко Н.	110
Rovira C.	22	Бузіашвілі А.	53
Rustler K.	22	Васильченко В.	29
Samoylenko A.	156	Величко С.	158
Scholze P.	22	Вілецька Ю.	34
Seniv M.	95	Волков Р.	148
Shandrenko S.	92	Воробйов А.	152
Sidhu A.	21	Галінська А.	67, 69
Siervatovska E.	163	Галінський О.	69
Skaterna T.	57, 59	Галкін О.	121
Sliusar M.	39	Гальчинська О.	158
Stepchenko L.	72	Гачкова Г.	91
Stoliar O.	145	Гнатюк О.	34
Sukhoveev O.	83	Говбах І.	62
Suvaryan U.	64	Гордієнко Ю.	31, 29
Sybirna N.	95, 117	Горіла М.	85, 87
Sylla B.	63	Греков Д.	121
Tokarchuk K.	57, 59, 92	Губіна-Вакулик Г.	46
Trufanova N.	161	Данилович Г.	154
Ushakova G.	64, 65	Данилович Ю.	154
Vainio S.	156	Данілов В.	158
Varghese J.	20	Даніловський С.	34
Veliky M.	114	Демченко О.	71
Verevka S.	30, 125	Дудінов Д.	89
Volodina T.	92	Дунаєвська О.	55
Voloshchuk O.	116	Духницький В.	158
Voroshylova N.	30, 98, 125	Дьомшина О.	89, 96, 103, 123, 143
Wutz D.	22		53
Yunko K.	145	Ємець А.	121
Zaichenko O.	128	Ємець Г.	121
Zhilyuk V.	64, 65	Ємець І.	121
Zhyvolozhnyi A.	156	Єфімова Ю.	41
Арнаута О.	130	Жилюк В.	89, 96, 103, 127
Бекасова О.	28	Запорожченко О.	102
Біла О.	137	Іскра Р.	107, 135, 160

Калачнюк Л.	130	Марунгруанг Н.	26
Карабаджак Л.	100	Марченко С.	49
Каракай Ю.	100	Медянцев О.	127
Карасьова О.	31	Меженська О.	23
Кириченко С.	96, 103, 111	Михейцева І.	110
Кіян А.	96	Мінченко Д.	34, 36
Кладницька Л.	158	Мінченко О.	34, 36, 41, 44
Климець Г.	160	Міщенко Л.	91
Коваленко Т.	26	Мурдасов Є.	111
Коваль О.	55	Мхітарян Л.	105
Ковпак В.	158	Наконечна О.	46
Кокошкіна О.	102	Невідник-	139
Колінько Л.	48	Правда А.	
Коломійчук С.	110	Ніколаєнко-	32
Коломійчук Т.	100	Камишова Т.	28
Колюча Г.	133	Омельянчик Л.	46
Копійка В.	28	Оніщенко А.	26
Король Л.	55	Осадченко І.	148
Костерін С.	154	Паламар В.	148
Котик Б.	135	Паламар О.	130
Котик О.	49	Пальонко Р.	148
Котлярова А.	49	Панчук І.	23
Кофан І.	78	Пархоменко Ю.	133
Кравчук В.	148	Пикало С.	139
Крамаренко П.	73	Платонова Т.	46
Кудряшова М.	103	Полікарпова Г.	123
Кучерява М.	75	Полянська Д.	141
Кучинська К.	55	Попова Т.	130
Кучменко О.	42	Прис-Каденко В.	26
Кучменко О.	105	Приходько О.	34
Легостаєва Т.	137	Ратушна О.	23
Ліпкан Н.	105	Ребрієв А.	55
Локтіонова Г.	127	Ренкеу О.	71, 77
Лубенець В.	107	Родинський О.	31
Любас Н.	107	Родіонова В.	62
Мазуркевич А.	158	Рубцов В.	164
Макаренко О.	100	Рудас О.	36, 41
Малюк М.	158	Рудницька О.	

Савчук Т.	158
Севериновська О.	67, 69, 75, 77, 78, 81
Сибірна Н.	91
Скибо Г.	26
Скляр Т.	150, 164
Скорик О.	119
Скубицька Л.	71, 77
Сможаник К.	62
Сокол А.	121
Сокульський І.	55
Степченко Л.	143
Тарасенко Е.	55
Тихомиров А.	152
Ткаченко А.	46
Ткаченко В.	42
Томчук В.	158
Ульдякова Л.	123
Усенко Я.	78
Ушакова Г.	26, 111, 127, 143
Харкевич Ю.	158
Хіта О.	34, 44
Хоменко О.	73
Цимбал Д.	34, 36, 41
Шевцова А.	31, 42
Шепілов Д.	26
Щепотьєва Д.	127
Щоткіна Н.	121
Щукіна О.	42
Юрченко Т.	133
Язловицька Л.	148
Якименко Д.	81

Наукове видання

**АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ СУЧАСНОЇ БІОХІМІЇ, ФІЗІОЛОГІЇ ТА
КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ: МАТЕРІАЛИ V МІЖНАРОДНОЇ
НАУКОВОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ**

Видання надруковано за рішенням Вченої ради біолого-екологічного
факультету Дніпровського національного університету
імені Олеся Гончара № 9 від 07.09.2020

Редакційна колегія: Ушакова Г.О. (відповідальний редактор),
Хоменко О.М.

Комп'ютерна верстка: Довбань О.О., Ковальчук Ю.П.

Підписано до друку 20.09.2020 Формат 60x84/16. Папір друкарський.
Друк плоский. Ум. друк.арк. 16,88. Ум. фарбовідб. . Обл.-вид. арк.
Тираж 100 пр. Зам. №

ПП «Ліра ЛТД», вул. Наукова, 5, м. Дніпро, 49010.
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру
Серія ДК № 188 від 19.09.2000 р.