

Українське біофізичне товариство
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України
Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки
Національна академія наук України
Академія наук вищої школи України
Київський академічний університет

**Матеріали Тематичного VII з'їзду
Українського біофізичного товариства**
*приуроченого до ювілейних дат всесвітньо
відомих українських вчених-біофізиків:
100-річчю з дня народження академіка П.Г. Богача
90-річчю з дня народження академіка М.Ф. Шуби*

Київ, 29-31 жовтня 2018 року

Київ
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України
2018

УДК 577.3:061.3(477)(082)

Матеріали Тематичного VII з'їзду Українського біофізичного товариства. – Київ, 2018. – 91 с.

До збірника увійшли тези доповідей, які присвячені актуальним питанням теоретичної біофізики, біофізики клітини, молекулярної біофізики, біофізики складних систем, механізмів дії фізичних та хімічних факторів на живі системи, прикладної біофізики, медичної та екологічної біофізики, методики викладання біофізики.

Збірник розрахований на широке коло науковців та студентів.

За достовірність поданих матеріалів відповідальність несуть автори.

УДК 577.3:061.3(477)(082)

© Київський національний університет
імені Тараса Шевченка, 2018

ЗМІСТ

НАУКОВА СЕСІЯ ДО 100-РІЧЧЯ ВІД ДНЯ НАРОДЖЕННЯ АКАДЕМІКА П.Г. БОГАЧА (1918-1981)	7
Наукова школа академіка П.Г. Богача у Черкаському національному університеті імені Богдана Хмельницького	7
Спрямована модуляція циклічними олігомерами фенолів активності енергозалежних катіон-транспортуючих систем гладеньком'язової клітини	8
Максимальна адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози	9
Нанорозмірні матеріали як модулятори скорочувальної функції гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту	10
РОЗДІЛ 1. БІОФІЗИКА КЛІТИНИ	11
Molecular mechanisms of AMPA receptors regulation in chronic pain.....	11
Detectors or intensity encoders: spinal projection neurons play distinct roles in nociception	12
Дисфункція гладеньких м'язів сечового міхура: причини і наслідки	13
Зміна електрокінетичних та осмотичних властивостей еритроцитів при дії граміцидину S.....	14
Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза матки	15
Механізми цитотоксичної дії похідних тіазолу на ракові клітини	16
Вивчення ролі $\beta\eta$ -домену фібриногену в адгезивних взаємодіях тромбоцитів та ендотеліоцитів та пухлинних клітин.....	17
Hypoxic depression of pacemaker activity of interstitial cells of Cajal as a pathogenic factor of gastrointestinal dysmotility: a simulation study	18
Impaired Ca^{2+} transport in rat ventricular myocytes with type 1 diabetes.....	19
Максимальна окисна здатність мітохондрій залежить від рівня експресії у клітинах транспортерів та їхньої спорідненості до субстратів окиснення	20
Вплив магнетитових наночастинок на клітини буккального епітелію	21
Іонний канал TRPV1 у гладеньком'язових клітинах сечового міхура відіграє роль ланки в холінорецепторному сигнальному каскаді	22
Кінетична інтерпретація дії калікс[4]арену C-956 на активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази плазматичної мембрани міоцитів матки.	23
Вплив помірної ацидифікації позаклітинного середовища на ГАМКергічну синаптичну передачу в культурі нейронів гіпокампа: додаткове підтвердження модуляторної ролі протон-активуючих каналів в ГАМКергічних синапсах.	24
Вплив короточасної гіперглікемії на рівень синаптичної активності та параметри кальцієвих сигналів у нейронах дорсального рогу	25

Антигемолітична ефективність хлорпромазину та його вплив на структурно-динамічний стан мембран еритроцитів	26
Особливості синаптичних відповідей нейронів верхнього шийного ганглія у щурів із стрептозоточин-індукованим цукровим діабетом	27
Властивості інозитол-1,4,5-трифосфатних рецепторів нативної ядерної мембрани кардіоміоцитів	28
The role of water in the hydration of blood cell membranes in the centimeter wavelength range	29
Effects of selective antagonist of asics in the LPS animal model of Parkinson's disease	30
Вплив кетаміну на mI_{CAT} гладеньких м'язів тонкого кишечника	31
Оцінка впливу кількості неушкоджених генів-супресорів у індивіда на ймовірність розвитку у нього онкозахворювання	32
Роль кальцієвої АТФази ендоплазматичного ретикулума в регуляції короткотривалої пластичності гальмівної синаптичної передачі	33
Електрофізіологічні властивості нейронів субепікардіального сплетіння щурів	34
Electrophysiological properties of subepicardial plexus neurons of rats.....	35
Моделювання ацетилхолінового мускаринового катіонного струму гладеньком'язевих клітин тонкого кишечника.....	36
Effects of amyloid β 1-42 and Cyclosporin A on neuronal membrane calcium channels in culturing hippocampal neurons.....	37
Effects of amyloid β 1-42 on impulse activity of rat isolated hippocampal neurons	38
Inhibition of par1 affects on emotionally-modulated behaviour and synaptic plasticity in rat at lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy.....	39
Effect of hypoxia on calcium signalling in cerebellar neurons of rat brain.....	40
Influence of NGF on Kv1.2 potassium channel expression in PC12 cells under hypoxia.....	41
Роль механочутливих TRPV4 каналів у регуляції скоротливості міометрію людини	42
Model mass spectrometric study of antimalarial artemisinin-type agents interactions with ascorbic acid and membrane phospholipids	43
The effect of melatonin different time administration on appearance beige adipocytes in white adipose tissue of rats with diet-induced obesity	44
Кальцієві сигнали при тонічній імпульсації гангліозних клітин сітківки ока щурів зі стрептозоточин-індукованим діабетом.....	45
Вплив меланіну на запальні процеси та процеси загоєння за умов лужного опіку стравоходу у щурів	46
РОЗДІЛ 2. МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА.....	47
DNA interactions with lysozyme amyloid fibrils monitored by the novel phosphonium dye TDV1.....	47

Біологічні наслідки взаємодії барвника метиленового синього з амінокислотою цистеїном	48
Membranotropic properties of different methotrexate – betulonic acid conjugates	49
Дослідження впливу іонів кальцію на десенситизацію TRPV1 каналів	50
Спектри люмінесценції основ нуклеїнових кислот у різних фазових станах під дією електронного пучка.....	51
Nanoparticles influence the amyloid fibril formation.....	52
Мембранні та внутрішньоклітинні механізми пуринергічної кальцієвої сигналізації в гладеньком'язових клітинах судин.	53
N-terminal domains of neurocalcin δ and hippocalcin underlies their distinct signalling.....	54
DNA time-dependent conformation rearrangements in the complex with endonuclease I-TevI: molecular dynamics simulation	55
Дія нового активатора флокаліну на серцево-специфічну комбінацію K_{ATP} -каналів порівняно з його похідним – пінацидиллом	56
Дослідження структурної топографії одотриптофанової форми тирозил-тРНК синтетази <i>B.taurus</i> методами флуоресцентної спектроскопії	57
Вплив похідного тіазолу на про- та антиоксидантні процеси в клітинах лімфоми Немет-Келнера	58
Фізичні принципи організації петельних доменів ДНК у ядрах еукаріотичних клітин	59
A QM/QTAIM comprehensive survey of the novel pathways of the mutagenic tautomerization of the T nucleobase in the classical A·T DNA base pairs.....	60
A QM/QTAIM investigations of the mutual structural transformations of the Watson-Crick and reverse Watson-Crick A·T DNA base pairs into the Hoogsteen and reverse Hoogsteen forms	61
РОЗДІЛ 3. МЕДИЧНА ТА ЕКОЛОГІЧНА БІОФІЗИКА	62
Вплив C_{60} фулеренів на механокінетичні та біохімічні параметри скорочення <i>muscle soleus</i> хронічно-алкоголізованих щурів з експериментально-індукованою ішемією	62
Використання акселерометрії для оцінки фізіологічного тремору людини	63
Динаміка рівня CO_2 у альвеолярному повітрі при гіпервентиляції	64
Action of memantine on time characteristics of sensory-motor responses in rats.....	65
Підготовка трансдюсерної поверхні оптичного біосенсора для експрес-індикації мікроорганізмів	66
РОЗДІЛ 4. ТЕОРЕТИЧНА БІОФІЗИКА, БІОФІЗИКА СКЛАДНИХ СИСТЕМ.....	67
Polymer-based hybrid nanocomposites for antitumor therapy: fundamental aspects of synthesis and characterization.....	67
Influence of synaptic excitation intensity and temperature on activity of CA3 hippocampal pyramidal neurons: a simulation study.....	68

Аномальні зміни показника заломлення золь Au під впливом лазерного та НВЧ випромінювання	69
Spectral manifestation of the small molecules interaction with metal nanoparticles in trial nanocomposites	70
Hybrid hydrogels based on polyacrylamide: promising advanced materials for biomedical applications	71
Single cell metabolic modelling of human placental trophoblast	72
Виявлення механочутливих каналів та вивчення можливої ролі в активації скорочення одно- та мультиклітинних препаратів ГМ сечового міхура та матки щура	73
РОЗДІЛ 5. МЕДИЧНА ТА БІОЛОГІЧНА ІНФОРМАТИКА.....	74
Screening for potential targets of certain n,π -chelates in human cancer cells	74
Correlation decay analysis of TRPM8 single-channel activity	75
Моделювання просторової структури ГАМК _B рецептора, його молекулярний докінг та молекулярна динаміка з баклофеном	76
Моделювання електричної активності та кальцієвої динаміки гладеньком'язових клітин детрузора людини	77
РОЗДІЛ 6. ДІЯ ФІЗИЧНИХ ТА ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ НА ЖИВІ СИСТЕМИ.....	78
Механочутливість гладеньких міоцитів детрузора щура	78
Дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію на показники прооксидантно-антиоксидантного стану різних органів птиці	79
Біофізичні методи оцінки протизапальної активності екстрактів плаценти людини	80
Вміст ТБК-позитивних продуктів у зародках в'юна за впливу електромагнітного випромінювання	81
Short-term hypoxia differentially affects excitatory and inhibitory retinocollicular synaptic transmission	82
Калікс[4]аренхалконаміди – модулятори середнього гідродинамічного діаметру мітохондрій	83
Вплив енергетичних напоїв на поведінкові реакції тварин	84
Гепаран-сульфат- та гіалуронат-зв'язувальна активність білків у субклітинних компартментах мозку щурів за умов гострого комбінованого іммобілізаційного стресу	85
Особливості стресової реакції клітин букального епітелію людини на дію нейтронного випромінювання	86
Крос-кореляційний аналіз трансмембранного потенціалу зародкових клітин у ранньому ембріогенезі за дії іонів важких металів	87
АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК.....	88

НАУКОВА СЕСІЯ ДО 100-РІЧЧЯ ВІД ДНЯ НАРОДЖЕННЯ АКАДЕМІКА П.Г. БОГАЧА (1918-1981)

Наукова школа академіка П.Г. Богача у Черкаському національному університеті імені Богдана Хмельницького

Лизогуб В.С.

НДІ фізіології Михайла Босого, Черкаського національного університету імені Богдана Хмельницького, v_lizogub@ukr.net

Маємо щасливу нагоду в рік ювілею засвідчити свою повагу і віддати належне нашому вчителю, вельмишановному академіку П.Г. Богачу. Наукова і педагогічна складова Петра Григоровича пов'язана не тільки з Київським університетом, а і з кафедрою анатомії та фізіології людини і тварин Черкаського національного університету. У 1953 р. перший завідувач кафедри М.К. Босий та П.Г. Богач (на той час директор НДІ фізіології) стали засновниками співпраці Черкаського і Київського університетів. Це співробітництво триває 65 р. Це зараз ми вже добре знаємо, яке гроно талантів мав високоповажний П.Г. Богач, але також ми споглядали й те, як ці таланти плекалися і зреалізовувалися. Відчували, що відповідальність, вимогливість, насамперед до себе, помножені на наполегливу, щоденну працю, були визначальною рисою його життя.

Наукові ідеї П.Г. Богача і результати його досліджень у фізіології травлення, фізіології гладеньких м'язів, ролі гіпоталамусу та вегетативної нервової системи у регуляції вісцеральних функцій, вікової фізіології, праці спорту та вищої нервової діяльності знайшли творче відображення у працях молодих викладачів, аспірантів кафедри анатомії та фізіології людини і тварин Черкаського національного університету. Слухаючи його лекції та спецкурси вже тоді ми розуміли, що перед нами викладач високого рівня підготовки. Отож і у такий спосіб формувалося усвідомлення того, що гуманітарна аура нації є абсолютною категорією, а не фантомом чи абстракцією, бо її основу складала енергія творчого начала і особистісного духовного поступу П.Г. Богача, який поряд з нами жив і працював, який здатний самовіддано без фальші працювати заради найважливіших проблем у фізіології.

Велику роботу проводив академік П.Г. Богач з питань підготовки наукових кадрів у Черкасах. Під його керівництвом з числа викладачів та аспірантів підготовлені 10 кандидатських: Давиденко І.М. (1963), Мартиненко М.Г. (1964), Лук'яненко Г.Ф. (1971), Лизогуб В.С. (1972), Шпарковський І.В. (1974), Іващенко В.П. (1975), Горощенко В.П. (1977), Евтушевська Е.Д., Погрібний А.С. та Фуртатова С.В. (1978) та 2 докторські дисертації (Давиденко І.М. - 1979; Шпарковський І.В. - 1981). Більшість учнів П.Г. Богача працювали і продовжують працювати на кафедрі анатомії та фізіології людини і тварин у Черкасах, а також у Чернігові, Полтаві, Кропивницькому, Сумах, Ніжині, Житомирі, Луцьку, Вінниці, Тернополі, Львові та закордоном: США, Канаді, Франції, Росії, Ізраїлі. Школа академіка П.Г. Богача сильна тим, що така співпраця була примножена його учнями та колегами професорами А.І. Косенко, Г.М. Чайченко, В.О. Цибенко, В.Л. Зимою, А.І. Масюком, П.С. Лященко, М.С. Мірошніченко, М.Ю. Макаrchуком та інші.

Значну роль П.Г. Богач відіграв у створенні у Черкасах сучасної наукової та навчальної бази. Він допомагав кафедрі у придбанні обладнання, методичної літератури та лабораторних тварин. За його сприянням була створена сучасна електрофізіологічна лабораторія вивчення гіпоталамусу та біомеханіки. Також зауважу, що інтереси П.Г. Богача розповсюджувалися і на організацію наукових з'їздів та симпозіумів. Необхідну організаційну роботу П.Г. Богач здійснив для проведення у Черкасах республіканської (1963) та всесоюзної (1980) конференцій. Діапазон наукових інтересів, новаторство, проблематики і системність аналізу, обстоювання власного погляду на визначальні аспекти проблем, що досліджуються, вміння, що важливо, аргументовано відстоювати власні позиції, засвідчує те, що науковий і педагогічний терен П.Г. Богача зреалізувався сповна.

Академік П.Г. Богач і сьогодні залишається видатним представником української фізіологічної школи, він є яскравою, сильною, непересічною особистістю. Світла пам'ять про Петра Григоровича Богача і сьогодні зберігається у Черкасах, у серцях всіх тих, хто знав і працював з ним. Нехай в житті його учнів і колег переважатимуть днини, сповнені любов'ю, вірою і надією.

Спрямована модуляція циклічними олігомерами фенолів активності енергозалежних катіон-транспортувальних систем гладеньком'язової клітини

Костерін С.О.

Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, kinet@biochem.kiev.ua

Під час пленарної доповіді, присвяченій пам'яті видатних українських біофізиків академіків НАН України П.Г.Богача та М.Ф.Шуби, будуть продемонстровані вибрані результати трансдисциплінарного («БІОФІЗИЧНА ХІМІЯ» + «БІОХІМІЯ» + «СУПРАМОЛЕКУЛЯРНА ХІМІЯ») вивчення співробітниками відділу біохімії м'язів ІБХ та хімії фосфоранів ІОХ НАН України молекулярних та мембранних механізмів АТР-залежної регуляції концентрації іонів Са в гладеньком'язових клітинах (ГМК) та модуляції її циклічними олігомерами фенолів - каліксаренами.

З точки зору біофізики та біофізичної хімії ГМК являє собою відкриту нерівноважну рецепторну Ca^{2+} -залежну тензоелектрохімічну ізотермічну систему. Для неї, стосовно внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостазу, притаманні, зокрема, такі властивості: кооперативність, нелінійність, неадитивність, синергістичність, наявність мережі позитивних і негативних зворотних зв'язків, а також явище "градієнту спорідненості" до іонів Са у випадку мембранозв'язаних енергозалежних Ca^{2+} -транспортувальних систем. З фундаментальної точки зору перспективним є комплексне трансдисциплінарне вивчення біофізикохімічних властивостей ГМК, з'ясування іонних, молекулярних і мембранних механізмів регуляції концентрації Ca^{2+} в них. АТР-гідролазні системи (як Ca^{2+} -транспортувальні мембранозв'язані, так і скоротливих протеїнів) задіяні у контролі унікального загальнобіологічного феномену – спряження збудження та скорочення. Тому нагальним є пошук низькомолекулярних оборотних ефекторів (інгібіторів, активаторів) – селективних та достатньо афінних ($K_{\text{eff}}=10^{-6}-10^{-5}$ М) регуляторів мембранозв'язаних Ca^{2+} -транспортувальних АТР-гідролаз та АТР-гідролази скоротливих протеїнів.

У доповіді планується зробити акцент на наступних питаннях: 1. АТР-гідролази ГМК (на прикладі міометрії) – ключові ензими, які контролюють спряження збудження та скорочення; 2. Калікс[4]арени та спрямована модуляція ними активності АТР-гідролазних систем та кальцієвого гомеостазу в міоцитах. Мова буде йти, зокрема, за ефекторний вплив вибраних калікс[4]аренів (С-90, С-956, С-97, С-99, С-107, халконвмісні каліксарени) на Mg^{2+} , АТР-залежні кальцієві помпи плазматичної мембрани (тапсигаргіннечутлива) та саркоплазматичного ретикулуму (тапсигаргінчутлива), Mg^{2+} , АТР-залежну натрієву помпу плазматичної мембрани, Ca^{2+} -уніпортер та Ca^{2+} - H^{+} -обмінник мітохондрій, АТР-гідролазу субфрагменту-1 міозину, а також на аніонну проникність бішару (на прикладі штучної пласкої фосфоліпідної мембрани).

При проведенні дослідів використовували наступні методи: - препаративної та аналітичної біохімії, біохімічної мембранології, ензимології, ізотопної техніки ($^{45}\text{Ca}^{2+}$), фотон-кореляційної спектроскопії, спектрофотометрії, спектрофлуориметрії, протокової цитофлуориметрії, світлової, електронної та конфокальної мікроскопії, комп'ютерного докінг-моделювання та молекулярної динаміки, хімічної та біохімічної кінетики, математичного моделювання та статистичного аналізу (ІБХ НАНУ); - органічного синтезу, ЯМР, інфрачервоної спектроскопії, ОФВЕРХ та молекулярного моделювання (ІОХ НАНУ).

Максимальна адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози

Манько В.В., Білонога О.О., Манько Б.О.

Львівський національний університет імені Івана Франка, volodymyr.manko@lnu.edu.ua, sidorova.olha@lnu.edu.ua, bohdan.manko@lnu.edu.ua

Одним з способів оцінки функціонального стану мітохондрій є визначення їхньої максимальної швидкості роз'єданого дихання. Але використання максимальної швидкості протонофор-стимульованого дихання не є стандартизоване. Сама компенсаторна реакція дихального ланцюга мітохондрій залежить від великої кількості чинників – доступності субстратів окиснення, НАД, ФАД, АДФ тощо. І, нарешті, максимальна швидкість роз'єданого дихання є неєдиним параметром, який може охарактеризувати це дихання. Метою дослідження було розробити та систематизувати методи дослідження адаптаційної здатності мітохондрій панкреатичних ацинусів. Для комплексної оцінки функціональної здатності мітохондрій панкреатитів ми визначили кілька параметрів.

Максимальну швидкість роз'єданого дихання визначали у кожному експерименті незалежно від концентрації FCCP. Встановлено, що максимальну швидкість роз'єданого дихання суттєво збільшували такі субстрати окиснення на тлі глюкози, як глутамін, ізоцитрат, малат, диметил- α -кетоглутарат чи монометилсукцинат, але не піруват, α -кетоглутарат чи сукцинат. Водночас, ацетилхолін і холецистокінін збільшували максимальну швидкість роз'єданого дихання за наявності у середовищі пірувату (крім глюкози), але не глутаміну, диметил- α -кетоглутарату чи монометилсукцинату.

Оптимальну концентрацію FCCP встановлювали як середньоарифметичне значення концентрації FCCP, за якої і реєстрували максимальну швидкість дихання. Виявилось, що оптимальна концентрація FCCP збільшується, коли у середовищі наявні, крім глюкози, глутамін, піруват чи їхня суміш, а також диметил- α -кетоглутарат чи монометилсукцинат. Цей параметр характеризує, очевидно, стійкість окисних процесів.

Прискорення і сповільнення FCCP-стимульованого дихання розраховували як коефіцієнт a рівняння швидкості дихання у часі $v(t) = a \cdot t + v_0$. Прискорення FCCP-стимульованого дихання за окиснення майже всіх субстратів (але не глутаміну) виявилось значно вищим після внесення FCCP у концентрації 1,5 мкмоль/л, ніж у концентрації 0,5 мкмоль/л. Після внесення 0,5 мкмоль/л FCCP і за окиснення малату і диметил- α -кетоглутарату воно було значно вищим, ніж за окиснення глюкози, а після внесення 1,5 мкмоль/л FCCP – лише за окиснення диметил- α -кетоглутарату. Сповільнення дихання внаслідок дії FCCP в концентрації 0,5 мкмоль/л суттєво збільшувалося у разі окиснення малату та ізоцитрату, а в концентрації 1,5 мкмоль/л – коли окиснювалися глюкоза, піруват і монометилсукцинат. Коли окиснювався глутамін і диметил- α -кетоглутарат, воно не змінювалося за обох концентраціях FCCP.

Зворотний зв'язок між швидкістю дихання і рівнем мембранного потенціалу мітохондрій. Встановлено, що чим нижче значення мембранного потенціалу мітохондрій, тим вища швидкість дихання, а ступінь цього зв'язку залежить від субстратів окиснення. Найсуттєвіше збільшення швидкості дихання зареєстровано за наявності у середовищі суміші глутаміну, пірувату і глюкози. За окиснення монометилсукцинату швидкість дихання починала збільшуватися, коли мембранний потенціал мітохондрій зменшувався більше, ніж у двічі.

Отже, наведені вище параметри роз'єданого дихання дають змогу оцінити різні аспекти максимальної адаптаційної здатності мітохондрій, яка визначається, очевидно, не лише компонентами дихального ланцюга чи ензиматичним комплексом у матриксі мітохондрій, а й наявністю транспортерів у плазматичній мембрані, ензиматичними процесами у цитозолі і сигнальними системами у клітині.

Нанорозмірні матеріали як модулятори скорочувальної функції гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту

Цимбалюк О.В.¹, Науменко А.М.¹, Давидовська Т.Л.¹

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Інститут високих технологій, e-mail: otsymbal@bigmir.net

Сучасні технології у медицині та різних галузях промисловості передбачають інтенсивну розробку та впровадження нанорозмірних матеріалів: ці ксенобіотики є частиною антропогенного впливу на живі системи, а також надзвичайно перспективною основою для створення лікарських засобів і продуктів медичного призначення нового покоління. У зв'язку з цим, однією з найбільш важливих і актуальних задач сучасної біофізики є встановлення закономірностей і механізмів дії нанорозмірних матеріалів на функціонування внутрішніх органів, зокрема гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту.

У роботі представлені результати комплексних (із залученням сукупності методичних підходів *in vitro* та *in vivo*) досліджень закономірностей і механізмів дії нанорозмірних матеріалів (наночастинок TiO_2 та окремих калікс[4]аренів – інгібіторів систем первинного активного транспорту плазматичної мембрани) на вісцеральні гладенькі м'язи. Усі експерименти на щурах проводились із дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

Встановлено, що наноматеріал TiO_2 дозозалежно змінює механокінетичні параметри спонтанних і викликаних скорочень кільцевих гладеньких м'язів шлунку. Попереднє блокування потенціалкерованих Ca^{2+} -каналів D-600 у значній мірі усуває активаційний ефект високими концентраціями TiO_2 ацетилхолінових скорочень. TiO_2 не змінює мобілізацію іонів Ca^{2+} з саркоплазматичного ретикулу міоцитів шлунку. Виявлено, що блокування роботи дихального ланцюга мітохондрій усуває ефекти TiO_2 на ацетилхолін-викликані скорочення м'язів шлунку. Встановлено, що при інтрагастральному введенні *in vivo* щурам наноматеріал TiO_2 проникає у тканини і в значній кількості накопичується у гладеньких м'язах шлунково-кишкового тракту; також за цих умов наночастинок TiO_2 змінюють механокінетичні параметри спонтанної та викликані скорочувальної активності цих м'язів.

Показано, що калікс[4]арени – інгібітори Na^+, K^+ -АТФази плазматичної мембрани (С-99 і С-107) в умовах дії *in vitro* модулюють скорочувальну активність гладеньких м'язів шлунку і товстого кишечника, переважно відтворюючи ефекти інгібітора натрієвої помпи убаїну. Втім, в умовах попереднього блокування Na^+, K^+ -АТФази убаїном калікс[4]арен С-99 спричиняє суттєве пригнічення фазного і збільшення тонічного компонента викликаних ацетилхоліном скорочень, а також зниження нормованої максимальної швидкості розслаблення. Встановлено, що калікс[4]арен С-107 зберігає свої інгібіторні якості щодо Na^+, K^+ -АТФази в умовах цілісного організму.

Вивчено закономірності дії калікс[4]аренів – інгібіторів кальцієвої помпи плазматичної мембрани (С-90 та С-716) на вісцеральні гладенькі м'язи. Одержане у випадку передінкубації гладеньком'язових препаратів міометрія з калікс[4]ареном С-90 вірогідне зниження нормованої максимальної швидкості розслаблення спонтанних і викликаних окситоцином скорочень ймовірно пов'язане зі спрямованим інгібуванням Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани. Дослідженнями із використанням блокатора синтаз оксиду азоту L-NAME показано, що блокування синтезу NO призводить до усунення інгібування як спонтанних, так і викликаних скорочень гладеньких м'язів міометрія під дією калікс[4]арену С-90.

Результати вивчення закономірностей та механізмів дії нанорозмірних матеріалів можуть бути корисними для подальших фармакологічних і токсикологічних досліджень, а також у випадку наноматеріалу TiO_2 – для розробки санітарних норм його використання.

РОЗДІЛ 1. БІОФІЗИКА КЛІТИНИ

Molecular mechanisms of AMPA receptors regulation in chronic pain

Voitenko N.V.

Department of Sensory Signaling, Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev, Ukraine, nana@biph.kiev.ua

AMPA receptors (AMPA receptors) are widely expressed in the brain, spinal cord and periphery. These receptors are critically involved in activity-dependent synaptic transmission and changes in their functioning are causally linked to multiple neuropathologies in the central nervous system (CNS). In adult mammalian CNS, most AMPARs have low Ca^{2+} permeability because GluR2 subunit is fully edited throughout development and widely expressed. We reported recently that AMPAR subunit GluR2 is internalized in dorsal horn neurons of the spinal cord during the maintenance period of Complete Freund's Adjuvant (CFA)-induced persistent inflammatory pain. This internalization depends on spinal cord dorsal horn (DH) protein kinase C α (PKC α) activation and is causally linked to pain hypersensitivity during the maintenance period of persistent inflammatory pain. We have also shown that CFA-induced inflammation causes an increase in functional expression of extrasynaptic AMPARs in rat substantia gelatinosa neurons during the maintenance rather than development of persistent pain. This increase, revealed as a significant enhancement of AMPA-induced membrane currents and $[\text{Ca}^{2+}]_i$ transients, was observed only in neurons characterized by an intrinsic tonic firing properties; whereas no changes were observed in neurons exhibiting a strong adaptation. The increase was also accompanied by an enhancement of surface GluR1 expression and of the total amount of cobalt-positive neurons indicating an increase in a pool of GluR2-lacking AMPARs in extrasynaptic plasma membrane. Our recent results show that PKC α inhibition by AS ODN (intrathecal administration) attenuates CFA-induced increases in the calcium permeability of synaptic AMPA receptors in the superficial dorsal horn neurons. Concomitantly, such inhibition resulted in major anti-hyperalgesic effects, suggesting that PKC α plays a major pronociceptive role in chronic pain states. Taken together, the results provide direct evidence linking dorsal horn PKC α to pain perception and suggest that it may offer a specific molecular target for the treatment of pain.

Supported by NASU Biotechnology Grant.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

Detectors or intensity encoders: spinal projection neurons play distinct roles in nociception

Belan P.V.

Department of Molecular Biophysics, Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev, Ukraine, pasha@biph.kiev.ua

Spinal lamina I projection neurons (PNs) relay peripheral nociceptive inputs to the supraspinal pain processing centers. Yet, the principle of signal encoding by population of these neurons is poorly understood. Here, using an intact spinal cord preparation we identified two groups of nociceptive-processing PNs with distinct input-output characteristics. The vast majority of neurons receive a few nociceptive C-fiber inputs, generate one spike, and function as painful stimulus detectors. However, 69% of action potentials in the entire PN population originated from a small fraction of high-output neurons (19%). These receive a large number of direct A δ and C fiber inputs, generate intrinsic bursts and efficiently integrate network activity via NMDA-receptor-dependent mechanisms. The high-output PNs gradually encode the intensity of nociceptive input into the number of generated spikes. Thus, two groups of PNs, detectors and intensity encoders, play principally different roles in nociception.

Supported by NASU Nanotechnology Grant.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

Дисфункція гладеньких м'язів сечового міхура: причини і наслідки**ШУБА Я.М.**

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, yshuba@biph.kiev.ua

Нетримання сечі внаслідок порушень функції сечового міхура є поширеною проблемою, яка у тій чи іншій мірі зачіпає біля 30% дорослого населення і значно погіршує якість життя. Ці порушення можуть виникати як у процесі природнього старіння людини, так і бути наслідком багатьох захворювань, включаючи такі поширені як множинний склероз, діабет і рак. В залежності від того, які причини лежить в основі дисфункції сечового міхура (ДСМ) – відхилення у нервовій регуляції, зміни скоротливості гладеньких м'язів детрузора (ГМД), або якісь невстановлені фактори говорять про те, що ДСМ має нейрогенну, міогенну або ідіопатичну природу. Незважаючи на множинність етіології ДСМ, методи її корекції, особливо у випадку, коли вона проявляється у надмірній скоротливості міхура, зводяться до використання антагоністів мускаринових ацетилхолінових (АХ) рецепторів (МАХР), які є основними збудливими рецепторами ГМД, а сам АХ – основним збудливим медіатором, вивільнюваним парасимпатичними нервовими закінченнями. Використання антагоністів МАХР зазвичай пов'язане із низкою побічних ефектів, але відсутність даних щодо конкретних молекулярних механізмів для більшості випадків ДСМ поки не дозволяє ідентифікувати додаткові терапевтичні мішені. У своїх дослідженнях ми зосередилися на визначенні молекулярних механізмів ДСМ, пов'язаної з двома важкими патологіями – діабетом I типу та раком сечового міхура. Дослідження проводили на препаратах ГМД сечового міхура щурів, у яких індукували діабет I типу з допомогою стрептозотоцину – сполуки, токсичної до інсулін-продукуючих бета-клітин, або рак сечового міхура з допомогою відомого уротеліального канцерогену, компонента тютюнового диму – N-бутил-N-(4-гідроксибутил)-нітрозаміну (ББН). Наші дані показують, що при діабеті, особливо коли він ускладнюється циститом, істотний внесок у посилення холінергічного компоненту скорочення робить зниження деградації медіатора ацетилхолінестеразою (АХЕ), яке може бути наслідком метаболічного ацидозу. У випадку раку сечового міхура спостерігається зниження спонтанної скорочувальної активності ГМД, зменшення холінергічного компоненту скорочень, викликаних електричною стимуляцією, та зміни у скороченнях, пов'язаних із активацією катіонних TRPV1, TRPV4 і калієвого ВК каналів. У доповіді будуть приведені відповідні експериментальні докази та зроблені висновки, як це може позначитися на симптоматиці ДСМ, пов'язаного з цими захворюваннями.

Зміна електрокінетичних та осмотичних властивостей еритроцитів при дії граміцидину S

Берест В.П., Січевська Л.В., Дягелева О.А., Сотніков А.А., Жигалова Н.М.

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

Подолання зростаючої резистентності мікроорганізмів до антибіотиків є глобальною проблемою постантибіотикової доби. Граміцидин S належить до протимікробних мембраноактивних пептидів, стійкість до яких розвивається вкрай повільно, і з якими пов'язують подолання антибіотикової резистентності. GS виявляє широку біологічну активність: подавляючи грампозитивні й слабкіше, грамнегативні бактерії та гриби, у той же час він згубно впливає на клітини організму хазяїна й тому застосовується у медицині лише зовнішньо. Не існує чіткого розуміння механізму його біологічної активності. Крім того, більшість результатів, було отримано для взаємодії GS з модельними мембранними системами, лише кілька досліджень присвячено взаємодії GS із природними мембранами та клітинами. Дія GS як антибіотика полягає в порушенні структури та функції цитоплазматичної мембрани [1]. Основною мішенню GS є ліпідний бішар. GS краще зв'язується із негативно зарядженими ліпідами, ніж з цвіттеріонними або незарядженими фосфо- і гліколіпідами [2]. Вбудовування в бішар супроводжується витонченням мембрани [3]. Існує неузгодженість наукових уявлень щодо локалізації та орієнтації GS в ліпідному бішарі мембрани [4, 5]. Підвищений рівень холестерину пригнічує GS-індукований виток флуоресцентного барвника із фосфатидилхолінових везикул і помітно знижує спорідненість GS та його аналогів до мембран. GS є достатньо неспецифічним у своїй дії і має високий ступінь гемолітичної активності.

Методами світлорозсіювання, проточної цитометрії та мікроелектрофорезу було вивчено вплив мікромолярних концентрацій граміцидину S на кінетику гемолізу, розподіл за об'ємом, величину потенціалу пробою та дзета-потенціал еритроцитів здорових донорів.

У концентраціях (2-15) мкМ/л граміцидин S змінює стійкість еритроцитів до кислотного гемолізу, більші концентрації поліпептиду виликають гемоліз. Спостерігається збільшення модального об'єму популяції еритроцитів при попередній інкубації клітин з такими ж концентраціями граміцидину, максимальний зсув відзначено при 15 хвилинній інкубації. Електрокінетична рухливість та поверхневий заряд мембрани еритроцитів лінійно знижується зі збільшенням концентрації граміцидину S, цей процес також є залежним від часу пре-інкубації.

Кінетичні особливості спостережуваних ефектів граміцидину S свідчать про кілька ступеневий механізм зв'язування пептиду з мембранами еритроцитів. Початкова адсорбція на сіалових кислотах і накопичення поліпептиду у примембранній області передують вбудовуванню граміцидину у ліпідний бішар. Очевидна зміна поверхневого заряду клітин при взаємодії із катіонним пептидом супроводжується немонотонними змінами осмотичної поведінки еритроцитів. Припускаємо, що модифікація глікокаліксу еритроцитів, або використання комплексів граміцидину із полімерами чи ліпідними міцелами сприятимуть зменшенню гемолітичної активності граміцидину S та підвищенню його терапевтичного індексу.

1. Abraham T, Prenner EJ, Lewis RN, et al. (2014) Structure-activity relationships of the antimicrobial peptide gramicidin S and its analogs: aqueous solubility, self-association, conformation, antimicrobial activity and interaction with model lipid membranes. *BBA*, 1838(5), 1420-9.
2. Tamaki M, Harada T, Fujinuma K, et al. (2012) Polycationic gramicidin S analogues with both high antibiotic activity and very low hemolytic activity. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 60(9), 1134-8.
3. Grage SL, Afonin S, Kara S, et al. (2016) Membrane Thinning and Thickening Induced by Membrane-Active Amphipathic Peptides *Front Cell Dev Biol*, 4, 65.
4. Swierstra J, Kapoerchan V, Knijnenburg A, et al. (2016) Structure, toxicity and antibiotic activity of gramicidin S and derivatives *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 35(5), 763-9
5. Berditsch M, Lux H, Babii O, Afonin S, Ulrich A.S. (2016) Therapeutic Potential of Gramicidin S in the Treatment of Root Canal Infections. *Pharmaceuticals (Basel)*, 9, 3-8.

Біосинтез та регуляторна роль оксиду азоту в мітохондріях гладенького м'яза матки

Данилович Г.В., Данилович Ю.В.

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, danylovych@biochem.kiev.ua

Оксид азоту є універсальною сигнальною і регуляторною молекулою в клітинах, зокрема впливає на скоротливу функцію гладенького м'язу матки (міометрія) [1-2]. Добре відома важлива роль мітохондрій в механізмах Ca^{2+} -сигналізації. Втім, можливість біосинтезу, його механізми та значення NO в регуляції Ca^{2+} транспорту і біоенергетики мітохондрій міометрія не з'ясовані. Нагальним є також пошук екзогенних нетоксичних речовин, насамперед серед супрамолекулярних поліфенольних сполук калікс[4]аренів [3], які б мали змогу ефективно діяти на зазначені процеси. Отже, метою досліджень було ідентифікувати та вивчити біосинтез NO в мітохондріях міометрія, з'ясувати особливості регуляції оксидом азоту та калікс[4]аренами транспорту Ca^{2+} та Ca^{2+} -залежної функціональної активності цих субклітинних структур.

Суспензію клітин виділяли з матки лабораторних щурів із застосуванням колагенази та соєвого інгібітора трипсину за Молардом [4]. Препарат ізольованих мітохондрій одержували із міометрія щурів за допомогою диференційного центрифугування [5]. Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

В роботі використано методи лазерної конфокальної мікроскопії, спектрофлуориметрії, протокової цитометрії, фотонної кореляційної спектроскопії, ензимології, кінетичного та статистичного аналізу.

Із застосуванням NO-чутливого флуоресцентного зонду DAF-FM та методології колокалізації флуоресцентних барвників вперше продемонстровано можливість синтезу NO мітохондріями в клітинах міометрія. Ротенон та антимицин пригнічували утворення NO. Встановлено, що уявна константа Міхаеліса за L-аргініном та константа активації за Ca^{2+} синтезу NO в ізольованих мітохондріях мають фізіологічне значення. Доведено, що продукція NO суттєво залежить від рівня їхньої енергізації. Інгібітор конститутивних ізоформ NO-синтази N^{G} -нітро-L-аргінін, блокатор Ca^{2+} -уніпортеру рутенієвий червоний, іони Mg та антагоністи кальмодуліну пригнічували продукцію NO мітохондріями.

Показано, що оксид азоту викликає помірне зниження електричного потенціалу на внутрішній мембрані мітохондрій, можливо через зменшення інтенсивності окиснення FADH_2 , а також запобігає набуханню органел.

Продемонстровано, що калікс[4]арен C-956 проникає в міоплазму та взаємодіє з мітохондріями. Він ефективно пригнічує H^+ - Ca^{2+} -обмінник внутрішньої мітохондріальної мембрани, посилює біосинтез NO мітохондріями та гальмує окиснення $\text{NADH}/\text{FADH}_2$ в електрон-транспортному ланцюзі.

Ці результати вказують на важливу роль мітохондрій міометрія як важливого джерела та мішені дії NO. Перспективним є пошук модуляторів синтезу NO серед калікс[4]аренів.

Автори дякують академіку НАН України Костеріну С.О. за консультації та зауваження.

1. Buxton, I. L. O. (2004) Regulation of Uterine Function: a Biochemical Conundrum in the Regulation of Smooth Muscle Relaxation. *Mol. Pharmacol*, 65,1051–1059
2. Ghimire, K., Altmann H. M., Straub A. C. & Isenberg J.S. (2017) Nitric oxide: what's new to NO? *Am. J. Physiol. Cell. Physiol*, 312, C254–C262
3. Giuliani M., Morbioli I., Sansone F. & Casnati A. (2015) Moulding calixarenes for biomacromolecule targeting. *Chem Commun*. DOI: 10.1039/C5CC05204A.
4. Mollard P., Mironneau J., Amedee T. & Mironneau C. (1986) Electrophysiological characterization of single pregnant rat myometrial cells in short-term primary culture. *Am. J. Physiol: Cell Physiology*, 250, C47-C54.
5. Костерин С. А., Браткова Н. Ф., Курский М. Д. (1985) Роль сарколеммы и митохондрий в обеспечении кальциевого контроля расслабления миометрия. *Биохимия*, 50,1350 – 1361.

Механізми цитотоксичної дії похідних тіазолу на ракові клітини

*Бабський А.М.¹, Фінюк Н.С.^{1,2}, Шалай Я.Р.¹, Гренюх В.П.¹, Мандзинець С.М.¹,
Остап'юк Ю.В.¹, Обушак М.Д.¹, Стойка Р.С.^{1,2}*

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, andriy.babsky@gmail.com

²Інститут біології клітини НАН України, м. Львів, nataliyafiniuk@gmail.com;
stoika.rostystyslav@gmail.com

Пошук нових ефективних протипухлинних речовин, які не мають негативних побічних ефектів на нормальні клітини, є надзвичайно актуальною проблемою сучасної біомедицини. Метою роботи було дослідити можливі механізми дії нових похідних тіазолу на ракові клітини.

У роботі використовували пухлинні клітини людини ліній U251 і T98G гліобластоми, WM793 меланоми, HL-60 гострого промієлоцитарного лейкозу та лімфоми NK/Ly (Немет-Келнера), а також непухлинні лінії НЕК293 нирки ембріона людини та ізольовані мітохондрії NK/Ly і печінки. Похідні тіазолу володіють широким спектром біологічних ефектів, корисних для фармацевтики. У даній роботі досліджували вплив синтезованих нами похідних тіазолу, а саме *N*-ацильованого 2-аміно-5-бензил-1,3-тіазолу (речовина 1), 8-метил-2-Ме-7-[трифлуорометил-фенілметил] піразоло[4,3-*e*][1,3]тіазоло[3,2-*a*]піримідин-4(2H)-ону (речовина 2) та *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксаміду (речовина 3) щодо їхньої цитотоксичної дії, зокрема індукції апоптозу, впливу на клітинний цикл, структуру ДНК, процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), дихання та окисне фосфорилування в ізольованих мітохондріях. Використовували тести на життєздатність клітин з барвником МТТ, Вестерн-блот аналіз клітинних білків, флуоресцентну мікроскопію, спектроскопічний та електрофоретичний методи для визначення відповідно фрагментації ДНК і її зв'язування та інші. Усі експерименти на тваринах проводили з дотриманням вимог чинного законодавства і норм біоетики.

Встановлено, що речовина 1 у мікромольних концентраціях є токсичною для пухлинних клітин ліній U251 і WM793 *in vitro* (IC₅₀ рівне 10 мкМ і 7,2 мкМ відповідно), водночас маючи низьку токсичність щодо не пухлинних клітин лінії НЕК293. Речовина 2 була токсичною щодо клітин ліній U251 та T98G і проявляла вищу цитотоксичну активність порівняно з такою дією традиційних протипухлинних препаратів, зокрема доксорубіцину і темозоломіду. Речовина 2 також індукувала апоптоз у досліджуваних пухлинних клітинах, ініціюючи розщеплення репараційного ензиму PARP1 і каспази 3, зростання рівня проапоптозних білків Вах і Вім та зниження рівня кінази фосфо-ERK1/2. Цитотоксичність речовини 2 була пов'язана із утворенням активних форм Оксигену та одонитковими розривами у молекулі ДНК, але при цьому не виявлено її безпосереднього включення у структуру ДНК.

За дії речовин 2 і 3 у концентраціях 10 і 50 мкМ достовірно змінювався вміст продуктів ПОЛ та активність антиоксидантних ензимів у клітинах лімфоми: зростав рівень гідропероксидів, знижувався рівень ТБК-позитивних продуктів і супероксид-радикалу, зростала активність супероксиддисмутази (СОД) і знижувалася активність каталази (КАТ) і глутатіонпероксидази (ГПО). Ймовірно, зміни вмісту продуктів ПОЛ залучені у протипухлинну дію досліджуваних речовин через зміну активності таких ензимів, як СОД, КАТ і ГПО, і посилення продукції супероксид-радикалу. Натомість, не було виявлено змін швидкості поглинання молекулярного Оксигену мітохондріями клітин лімфоми і печінки.

Отримані результати можуть бути важливими для доклінічного випробування похідних тіазолу як потенційних хіміотерапевтичних препаратів із мінімальним побічним ефектом.

Вивчення ролі $\text{V}\beta\text{N}$ -домену фібриногену в адгезивних взаємодіях тромбоцитів та ендотеліоцитів та пухлинних клітин

Стогній Є.М.^{1,2}, Чернишенко В.О.¹, Ребрів А.В.¹, Гарманчук Л.В.²

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

²- ННЦ «Інститут біології та медицини», Київ, Україна, stogniyevgen@gmail.com

Вступ. $\text{V}\beta\text{N}$ -домен фібрин(оген)у представлений N-кінцевими послідовностями $\text{V}\beta$ -ланцюгів молекули. Ця ділянка є структурно лабільною і водночас реакційно здатною. Метою нашого дослідження стало вивчення участі $\text{V}\beta\text{N}$ -доменів фібрин(оген)у в процесах агрегації тромбоцитів, проліферації ендотеліоцитів та ракових клітин. Як інструментом у такому дослідженні ми скористалися протеолітичним ензимом, здатним відщеплювати N-кінцеві послідовності $\text{V}\beta$ -ланцюгів фібриногену.

Матеріали і методи. Фібриногеназу з отрути *Echis multisquamatis* отримували шляхом фракціонування цільної отрути з використанням іонообмінної хроматографії на Q-sepharose на хроматографічній системі FPLC Akta (GE Healthcare, США). Фібриноген людини отримували з цільної донорської крові за допомогою висолювання за методом Варецької. Гідроліз фібриногену отриманою фібриногенази вивчали за допомогою електрофорезу в ПААГ за методом Лемлі. Ідентифікацію продукту гідролізу проводили за допомогою мас-спектрометрії MALDI-TOF (Agilent, USA). Ідентифікацію частково гідролізованого фібриногену проводили за допомогою програми Peptide mass calculator. Частково гідролізований фібриноген отримували за допомогою висолювання рівним об'ємом 16 % сульфатом натрію. ADP-індуковану агрегацію тромбоцитів за приступності частково гідролізованого фібриногену вивчали на агрегометрі «Солар AP2110» (Солар, Білорусь). Проліферацію ракових клітин лінії H1299 за присутності фібриногену вивчали за допомогою тесту «заростання подряпини». Після формування моношару у культурі клітин здійснювалась стандартна подряпина, після заміни поживного середовища клітини інкубували протягом доби за присутності чи у відсутності частково гідролізованого фібриногену. Порівнювали кількість клітин, що мігрували в уражену зону в контролі та при експозиції 50 мкг/мл фібриногену. Для вивчення проліферації ендотеліоцитів отримували фібрин-мономер з частково гідролізованого фібриногену відповідно до методики Варецької. Ендотеліоцити свині (PAE) культивували на підложках з фібрину, життєздатність клітин визначали за допомогою МТТ-тесту.

Результати. Було показано, що фібриногеназа з отрути *Echis multisquamatis* відщеплює від молекули фібриногену пептиди $\text{V}\beta 1$ -42, що відповідають послідовностям парних $\text{V}\beta\text{N}$ -доменів. призводить до зниження здатності фібриногену підтримувати агрегацію тромбоцитів. Ступінь агрегації тромбоцитів у пробах з частково гідролізованим фібриногеном $\text{desV}\beta 1$ -42 знижувався на 15-20 %.

Показано, що клітини клітин лінії H1299 заростають механічну подряпину за присутності частково гідролізованого фібриногену на 20 % повільніше, аніж за присутності нативного фібриногену.

Ендотеліальні клітини, культивовані на нативному фібрині desAB , схильні до утворення моношару, у той же час, на частково гідролізованому фібрині спостерігали розрізнені клітини та поодинокі групи клітин. Це свідчить про те, що взаємодія ендотеліоцитів з $\text{V}\beta\text{N}$ -доменом важлива для їхньої проліферації.

Висновок. Було виявлено важливий внесок $\text{V}\beta\text{N}$ -доменів фібрин(оген)у в його взаємодію з тромбоцитами, ендотеліоцитами та раковими клітинами. Усунення чи екранування даних послідовностей молекули фібриногену може вносити суттєвий вклад як у запобігання атеротромбозу та атеротромбозу, так і в перешкоджання метастазуванню злоякісних пухлин.

Hypoxic depression of pacemaker activity of interstitial cells of Cajal as a pathogenic factor of gastrointestinal dysmotility: a simulation study

Korogod S.M.¹, Cymbalyuk G.S.², Makedonsky I.A.³, Kulagina I.B.⁴

¹O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, dnipro@biph.kiev.ua

²Georgia State University, Atlanta, USA, gcymbalyuk@gsu.edu

³Dnipropetrovsk specialized clinical medical center for mother and child health named after Prof. M.F.Rudnev, Dnipro, Ukraine, igor_makedonsky@yahoo.com

⁴O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, kulagina.iryana@gmail.com

Hypoxic-ischemic injury in neonates is a known risk factor of total bowel and/or segmental disorders of intestinal motility. The gastrointestinal motility to a significant extent is driven by the pacemaker action of the interstitial cells of Cajal (ICCs) on intestinal smooth muscle cells (SMCs). We used a detailed biologically inspired computer model of ICC to explore how the hypoxia affects the ICC pacemaker activity. The latter is manifested in oscillations of the cell membrane potential E_m and intracellular calcium concentration $[Ca^{2+}]_i$, which are determined by interplay of calcium-handling mechanisms involving the endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria. The hypoxic action was simulated by a reduction of the mitochondrial bulk membrane potential ($\Delta\Psi^*$) or maximal rates of Ca^{2+} -ATPase pumps of the plasmalemma or ER (PMCA or SERCA, respectively). Reducing $\Delta\Psi^*$ led to a decrease in the oscillations frequency and further transition into the downstate that was characterized by resting levels E_m and basal $[Ca^{2+}]_i$. When SERCA pumping was depressed the ICC activity also moved to the downstate, which in this case was characterized by small-amplitude oscillations of E_m and $[Ca^{2+}]_i$ near the resting/basal levels. Depression of the PMCA pumping resulted in the ICC transition into the upstate characterized by persistent depolarized E_m and elevated $[Ca^{2+}]_i$, which significantly exceeded the downstate levels. Hence, hypoxic suppression of any of the above considered energy-consuming mechanisms can lead through different ways to the same outcome: the cessation of the ICC pacemaker activity. This may have crucial pathological consequences for ICC-driven periodic contractions of electrically coupled SMCs and thus cause the gastrointestinal dysmotility.

Acknowledgment. This work was partly supported (S.K and G.C.) by the Brain and Behavior program of the Georgia State University, Atlanta, USA.

Impaired Ca^{2+} transport in rat ventricular myocytes with type 1 diabetes

Vadym Sydorenko¹, Lina Al Kury², Muhammad A. Qureshi³, Anatoliy Shmygol⁴,
Frank C. Howarth⁵

¹Institute of Experimental Medicine, Budapest, Hungary, vadym.sydorenko@gmail.com

²College of Natural & Health Sciences, Zayed University, Abu Dhabi, UAE, Lina.AlKury@zu.ac.ae

³College of Medicine & Health Sciences, UAE University, Al Ain, UAE, anwar.qureshi@uaeu.ac.ae

⁴College of Medicine & Health Sciences, UAE University, Al Ain, UAE, a.shmygol@uaeu.ac.ae

⁵College of Medicine & Health Sciences, UAE University, Al Ain, UAE, chris.howarth@uaeu.ac.ae

Problem statement. Diabetes mellitus is a serious health problem leading to cardiovascular disease and remature death worldwide [1]. Diabetes type 1 causes cardiac dysfunction which have been partly attributed defects in Ca^{2+} metabolism including Ltype Ca^{2+} current, SR Ca^{2+} uptake and release, and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange [2-4]. Previous experiments on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat myocytes isolated from different region of the ventricle, have reported alterations in the amplitude and time course of shortening [5]. The aim of this study was to investigate Ca^{2+} transport in epicardial (EPI) and endocardial (ENDO) left ventricular myocytes in the streptozotocin (STZ) induced diabetic rat.

Methods. Ventricular myocytes were freshly isolated from control and STZ-induced diabetic male (250 g) Wistar rat with Langendorff perfusion system. Ca^{2+} current via L-type channels ($I_{\text{Ca,L}}$) and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger current (I_{NCX}) was measured by whole-cell patch clamp techniques. The Ca^{2+} transient amplitudes were measured with fura-2 indicator loaded via patch pipette. The fluorescent signals were recorded as the ratio (F_{360}/F_{380}) of the fluorescent.

Results. $I_{\text{Ca,L}}$ amplitude, steady-state inactivation and time course of recovery from inactivation, as well as time course of Ca^{2+} transients on the test voltage range were not significantly altered in EPI and ENDO myocytes from STZ-treated rats and controls. In the same time the Ca^{2+} transients amplitude were significantly ($p<0.05$) increased in ENDO-STZ compared to ENDO-CON and in EPI-STZ compared to EPI-CON myocytes. The amplitude of I_{NCX} was significantly ($p<0.05$) smaller in ENDO-STZ compared to ENDO-CON and in EPI-STZ compared to EPI-CON myocytes.

Conclusion. Consistent with our results regional differences of calcium transport may partly underline changes in ventricular myocyte shortening across the wall of the healthy and the diabetic rat.

Acknowledgment: The work has been supported by a grants from Zayed University, Abu Dhabi, UAE and College of Medicine & Health Sciences, UAE University.

All procedures used in this study were approved Animal Ethics Committee College of Medicine & Health Sciences, United Arab Emirates University.

1. Federation ID. International Diabetes Foundation. Diabetes Atlas. (2010) [online]. Available at: <http://www.diabetesatlas.org/>.

2. Choi KM et al. (2002) Defective intracellular Ca^{2+} signaling contributes to cardiomyopathy in type 1 diabetic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 283, 1398–1408.

3. Hattori Y et al. (2000) Diminished function and expression of the cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger in diabetic rats: implication in Ca^{2+} overload. *J Physiol.*, 527, 85-94.

4. Sorrentino A et al. (2017) Hyperglycemia induces defective Ca^{2+} homeostasis in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 312, 150-161.

5. Smail MM et al. (2016) Regional effects of streptozotocin-induced diabetes on shortening and calcium transport in epicardial and endocardial myocytes from rat left ventricle. *Physiol Rep*, 4, 1-11.

Максимальна окисна здатність мітохондрій залежить від рівня експресії у клітинах транспортерів та їхньої спорідненості до субстратів окиснення

Мазур Г.М., Манько Б.О., Манько В.В.

Львівський національний університет імені Івана Франка, halyna.mazur@lnu.edu.ua, bohdan.manko@lnu.edu.ua, volodymyr.manko@lnu.edu.ua

В умовах функціонального навантаження чи патологічних станів мітохондрії здатні підвищувати роботу дихального ланцюга для компенсування енергетичних витрат клітини. Максимальна окисна здатність мітохондрій характеризується максимальною швидкістю дихання (найвище значення швидкості дихання не залежно від концентрації FCCP) та оптимальною концентрацією FCCP, за якої ця швидкість зареєстрована. Для тестування максимальної окисної здатності мітохондрій гепатоцитів ми використовували FCCP у зростаючих концентраціях (0,25, 0,5 та 1 мкмоль/л). Досліди виконували на щурах масою 250–300 г. Гепатоцити ізолювали двостадійним методом Сеглена. Кількість інтактних клітин (незафарбованих трипановим синім) становила $82,29 \pm 1,79$ %. Їх інкубували впродовж 15 хв за 37°C у середовищах з різними субстратами окиснення (глутаміном, піруватом, сукцинатом, монометил-сукцинатом, α -кетоглутаратом, диметил- α -кетоглутаратом (по 2 ммоль/л) чи глюкозою (10 ммоль/л)), а потім вносили у полярографічну комірку для визначення швидкості дихання. Одним із чинників, які визначають максимальну окисну здатність мітохондрій інтактних клітин, є, мабуть, рівень експресії транспортерів субстратів, їхня локалізація та спорідненість до цих субстратів. У гепатоцитах щурів експресуються GLUT-1, -2 і -3, але глюкоза у ці клітини транспортується лише, очевидно, переносником GLUT-2 [1] з $K_m \sim 17$ ммоль/л [2]. Піруват транспортують карбоксилатні транспортери 4 класів – MCT-1, -2, -6 і -7 зі значенням K_m від 0,6 до 2 ммоль/л [3]. Глутамін у гепатоцити транспортують SNAT3 та SNAT5 з $K_m \sim 1,25$ ммоль/л [4]. Перенесення сукцинату та α -кетоглутарату з $K_m \sim 5\text{--}30$ мкмоль/л здійснюється Na^+ -дикарбоксилатними котранспортерами [5]. З'ясувалося також, що внаслідок додавання глюкози чи α -кетоглутарату максимальна окисна здатність мітохондрій не змінювалася. Хоча за окиснення диметил- α -кетоглутарату збільшилася максимальна швидкість дихання, але не оптимальна концентрація FCCP. За окиснення сукцинату, який транспортується тими самими транспортерами, що і α -кетоглутарат, збільшилася максимальна швидкість дихання, але не оптимальна концентрація FCCP. Обидва параметри збільшилися за окиснення монометил-сукцинату. Піруват та глутамін суттєво збільшували оптимальну концентрацію FCCP, але не максимальну швидкість дихання. Отже, монометил-сукцинат, сукцинат і диметил- α -кетоглутарат збільшують максимальну швидкість дихання, а піруват, глутамін і монометил-сукцинат – підтримують стабільність дихальних процесів, що підтверджує важливе значення локалізації транспортерів субстратів окиснення у плазматичній мембрані для підтримки максимальної окисної здатності мітохондрій.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

1. Rencurel F., Waeber G., Antoine B., Rocchiccioli F., Maulard P., Girard J., Leturque A. (1996) Requirement of glucose metabolism for regulation of glucose transporter type 2 (GLUT2) gene expression in liver. *Biochem J.*, 15, 903–909.
2. Uldry M., Ibberson M., Hosokawa M., Thorens B. (2002) GLUT2 is a high affinity glucosamine transporter. *FEBS Lett.*, 524, 199–203.
3. Bonen A., Heynen M., Hattar H. (2006) Distribution of monocarboxylate transporters MCT1-MCT8 in rat tissues and human skeletal muscle. *J. Appl Physiol Nutr Metab.*, 31, 31–39.
4. Baird F. E., Beattie K. J., Hyde A. R., Ganapathy V., Rennie M. J., Taylor P. M. (2004) Bidirectional substrate fluxes through the System N (SNAT5) glutamine transporter may determine net glutamine flux in rat liver. *J. Physiol.*, 559, 367–381.
5. Moseley R. H., Jarose S., Permod P. (1992) Hepatic Na^+ -dicarboxylate cotransport: identification, characterization, and acinar localization. *Am J. Physiol.*, 6, 871–879.

Вплив магнетитових наночастинок на клітини буккального епітелію

Біловецька С.Г.¹, Шкорбатов Ю.Г.¹, Коваленко І.Ф.²

¹Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, yuriy.shckorbatov@gmail.com; svetlabelovetskaya@gmail.com;

²Інститут проблем кріобіології та кріомедицини національної академії наук України

Метою даного дослідження було визначення впливу наночастинок (Fe_2O_3) - М35 на стан клітин буккального епітелію людини.

Матеріалом для даної роботи були клітини буккального епітелію 2 людей (чоловіка та жінки), а також наночастинок в концентраціях 0,1%; 0,01%; 0,001%.

Були використані методи: показник конденсації хроматину в ядрі (є показником пошкодження клітини); показник життєздатності клітинних мембран; показник вивільнення кальцію із цитоплазми клітини (є наслідком проникності клітинних мембран).

В ході роботи були зроблені наступні висновки про вплив наночастинок:

- При 5 хвилинах інкубації клітин в суспензії наночастинок, достовірних змін ступеня конденсації хроматину при забарвленні осейном, в більшій кількості випадків, не виявлено. Конденсація хроматину спостерігається в концентраціях розчину: 0,1% - в клітинах чоловічого типу; 0,01% - в клітинах жіночого типу.
- Встановлено підвищення ступеня конденсації хроматину при забарвленні осейном в ядрах клітин буккального епітелію людини під впливом 0,1% розчину наночастинок: донора чоловічої статі – при 60 хвилинах впливу в 0,01% розчині наночастинок та вище, а клітин донора жіночої статі - протягом 120 хвилин.
- Показники КГГ підвищуються при мінімальному часі інкубації клітин в суспензії наночастинок протягом 5 хвилин для донора клітин чоловічої статі, а для клітин жіночої статі при 60 хвилинах впливу.
- Перша стадія пошкодження клітин (конденсації хроматину в ядрі), забарвлених барвником Хехст 33342, у всіх випадках проявляється достовірно для обох донорів.
- Процес гетерохроматинізації та коефіцієнт життєздатності залежить від часу впливу на клітини, а також від відсоткового співвідношення наночастинок в розчині.
- Був виявлений кореляційний зв'язок процесу вивільнення кальцію з цитоплазми клітин, забарвлених барвником Fluo3, та барвником під впливом 0,001% розчину наночастинок: донора жіночої статі – при 10 хвилинах впливу в 0,01% розчині наночастинок, а клітин донора чоловічої статі - протягом 30 хвилин.

1. Arun Kumar, Prasanna K. Jena, Sumita Behera, Richard F. Lockey, Subhra Mohapatra, Shyam Mohapatra.(2010) Multifunctional Magnetic Nanoparticles for Targeted Delivery. *Nanomedicine*, 6(1), 64–69.

2. Babičl M., Horák D. (2014). Influence of surface-modified maghemite nanoparticles on in vitro survival of human stem cells. *Beilstein J. Nanotechnol*, 5, 1732–1737.

3. Shckorbatov Y.G., Zhuravleva L.A. , Navrotskaya V.V. , Miroshnichenko E.V., Montvid P.Y., Shakhbazov V.G., Sutushev T.A. (2005). Chromatin structure and the state of human organism. *Cell Biol. Internat*, 29, 77-81.

Іонний канал TRPV1 у гладеньком'язових клітинах сечового міхура відіграє роль ланки в холінорецепторному сигнальному каскаді

Б.Р. Шаропов, Ю.Б. Дискіна, С.І. Єльяшов, А.Ю. Алексєєва, Насібян Л.С.

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, Київ 01024, Україна, sharopov@biph.kiev.ua

Згідно з даними, накопиченими у попередніх дослідженнях термочутливого іонного каналу TRPV1, у організмі він відіграє не лише канонічну роль сенсора опікової температури ($>42^{\circ}\text{C}$) у аферентних волокнах шкіри, але і полімодального рецептора, залученого в інші численні процеси завдяки проникності його селективної пори до іонів Ca^{2+} . До таких процесів може належати і спряження між Ca^{2+} -відповіддю у гладеньком'язових клітинах (ГМК) сечового міхура та їхнім скороченням. У пропонованій роботі досліджено вплив капсаїцину (КАПС), активатора TRPV1 та активної речовини з плодів гострого червоного перцю з роду *Capsicum*, на ГМК сечового міхура щура.

Для встановлення експресії, субклітинної локалізації та функціональної значущості TRPV1 у зазначених клітинах були використані методи patch clamp у конфігурації «ціла клітина», флуоресцентної кальцієвої візуалізації та тензометрії на м'язових смужках.

Прикладання КАПС у насичувальній концентрації 10 мкМ не викликало змін у трансмембранних струмах через плазмалему ГМК, зареєстрованих методом patch clamp у конфігурації «ціла клітина», що свідчить про відсутність TRPV1 у плазматичній мембрані цих клітин. З іншого боку, аплікація цього фармакологічного агента викликала виражену Ca^{2+} -відповідь у експерименті з кальцієвої візуалізації за допомогою Ca^{2+} -чутливого флуоресцентного барвника Fura-2 AM у 42% досліджених ГМК. У той же час, у решті клітин кальцієвий інфлакс не спостерігався, хоча їхня життєздатність була підтверджена аплікацією контрольного активатора холінорецепторів карбахолу (КХ) у концентрації 100 мкМ. Скорочення м'язової смужки сечового міхура, викликане КХ, блокувалося на 54% антагоністом TRPV1 капсазепіном у концентрації 10 мкМ, що може свідчити про посередницьку роль цього іонного каналу між холінорецепторами ГМК та їхнім актин-міозиновим апаратом.

Таким чином, представлені дані можуть свідчити про раніше невідому експресію TRPV1 у частині ГМК, його субклітинну локалізацію у саркоплазматичному ретикулумі цих клітин та функцію ланки в холінорецепторному сигнальному каскаді.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

Кінетична інтерпретація дії калікс[4]арену C-956 на активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази плазматичної мембрани міоцитів матки.

Векліч Т.О., Шкрабак О.А.

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, 01601, м. Київ, вул. Леонтовича, 9, veklich@biochem.kiev.ua

Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРаза плазматичної мембрани (ПМ) підтримує низьку концентрацію іонів Са в розслаблених міоцитах, а також забезпечує зниження концентрації Ca^{2+} в міоплазмі після скорочення м'язу і, отже, вносить внесок у релаксацію м'язу. З огляду на вищезазначене перспективним є пошук сполуки, яка дозволяла б змінювати активність Ca^{2+} -помпи ПМ. З цієї точки зору цікавими є каліксарени, оскільки в попередніх дослідках було знайдено, що калікс[4]арен C-956 здатний селективно (відносно інших АТР-гідролаз ПМ) інгібувати активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ($I_{0,5} = 15,0 \pm 0,5$ мкМ).

Метою цієї роботи було вивчення залежності кінетичних параметрів інгібування Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ПМ клітин гладеньких м'язів калікс[4]ареном C-956 від концентрації іонів Mg, Са та АТР. Калікс[4]арени були синтезовані академіком НАНУ В.І. Кальченком та його колегами (Інститут органічної хімії НАНУ). Експерименти були виконані на суспензії ПМ клітин міометрія, обробленій 0,1 % розчином дигітоніну.

Нами була вивчена залежність питомої активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ПМ від концентрації іонів Mg, Са та АТР в інкубаційному середовищі при різних концентраціях каліксарену C-956 (відповідно 1, 10, 30, 60 та 100 мкМ).

Перевіряли спорідненість зазначеного ензиму до АТР, іонів Mg та Са в залежності від концентрації каліксарену C-956, а також його вплив на кооперативний ефект та на максимальну швидкість гідролізу АТР. На спорідненість Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази до АТР каліксарен C-956 практично не впливає, що свідчить про відсутність конкуренції між центрами зв'язування АТР та C-956. Так само можна відзначити відсутність впливу на спорідненість та кооперативний ефект іонів Са у межах застосування каліксарену C-956 до 50 мкМ. Під впливом калікс[4]арену C-956, спостерігається незначне зростання коефіцієнту активації Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази хлоридом магнію. У всіх трьох випадках спостерігалось суттєве зменшення максимальної швидкості гідролізу АТР, що у поєднанні з відсутнім впливом на константу спорідненості свідчить про неконкурентний механізм інгібування каліксареном C-956 Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази активності.

За допомогою конфокальної мікроскопії ми показали, що ця сполука підвищує концентрацію Ca^{2+} у міоцитах міометрія. За допомогою ЛКС було показано, що C-956 призводить до зменшення ефективного гідродинамічного діаметру гладеньком'язових клітин, на 45 % відносно контролю, що свідчить про скорочення міоцитів.

Отже, ми показали, що калікс[4]арен C-956 не впливає на коефіцієнти активації для іонів Са та Mg, уявну константу Міхаеліса K_m за АТР, проте ця сполука у всіх випадках зменшує максимальну початкову швидкість V_{\max} реакції гідролізу АТР. Таким чином, калікс[4]арен C-956 діє як повний неконкурентний інгібітор Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ПМ.

Дані цієї роботи можуть слугувати підґрунтям для використання калікс[4]арену C-956 в якості селективного та ефективного інгібітора Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ПМ, що, в свою чергу, матиме важливе значення для подальшого з'ясування мембранних механізмів Ca^{2+} -обміну у ГМ, зокрема, під час вивчення ролі ПМ в забезпеченні електромеханічного спряження в них.

Автори висловлюють вдячність академіку НАНУ проф. С.О. Костеріну за обговорення результатів дослідів та творчі дискусії.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

Вплив помірної ацидифікації позаклітинного середовища на ГАМКергічну синаптичну передачу в культурі нейронів гіпокампа: додаткове підтвердження модуляторної ролі протон-активуючих каналів в ГАМКергічних синапсах.

Сторожук М.В.¹, Іванова. С.Ю.¹, Ніколаєнко Л.¹

Інститут фізіології ім. Богомольця НАН України; Вул. Богомольця 4, Київ, Україна, maksim@biph.kiev.ua

Нещодавно ми повідомляли (Storozhuk et al 2016) про те, що декілька блокаторів протон-активуючих каналів (ASICs) певним і схожим чином впливають на ГАМКергічну синаптичну передачу в культурі нейронів гіпокампа. Зокрема, вони диференційовано впливають на вхідні та вихідні ГАМКергічні постсинаптичні струми (зареєстровані нижче та вище потенціалу реверсії, відповідно) в тих самих постсинаптичних клітинах. Крім того, вплив принаймі одного з цих блокаторів залежить від концентрації буферу протонів у позаклітинному розчині, що є подальшим підтвердженням специфічності дії цих блокаторів ASICs. Разом з іншими нашими даними це є пріоритетним в світовій літературі свідченням про модуляторну роль протон-активуючих каналів в ГАМКергічних синапсах в фізіологічних умовах (Storozhuk, Krishtal 2017), за умови що ефекти блокаторів ASICs в наших експериментальних умовах є достатньо специфічними. В даній роботі ми провели додатковий тест специфічності дії цих блокаторів в наших експериментальних умовах.

Ацидифікація, тобто збільшення концентрації протонів, активує, а згодом десенситизує протон-активуючі канали. Тому, схожість впливів тривалої ацидифікації та блокаторів ASIC на певне явище або процес використовується як додатковий тест на специфічність дії блокаторів ASICs. В цьому контексті, ми вивчали ефекти помірної (до pH 6.7) та тривалої (десятки секунд) ацидифікації позаклітинного середовища на ГАМКергічну синаптичну передачу з використанням стандартної петч-клемп методики. Саме помірна ацидифікація використовувалась для зменшення впливу протонів на інші ніж ASICs молекулярні мішені. Ми встановили, що помірне закислення позаклітинного середовища також диференційовано впливає на ГАМКергічні постсинаптичні струми.

Ці результати є додатковим підтвердженням специфічності впливу блокаторів ASICs на ГАМКергічну синаптичну передачу в наших експериментальних умовах, а отже і модуляторної ролі протон-активуючих каналів в ГАМКергічних синапсах.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

1. Storozhuk, M., Kondratskaya, E., Nikolaenko, L. & Krishtal O. (2016) A modulatory role of ASICs on GABAergic synapses in rat hippocampal cell cultures. *Mol Brain*, 9(1), 90.
2. Storozhuk, M., Krishtal, O. (2017) ASICs may affect GABAergic synapses. *Oncotarget*, 8(26), 41788-41789.

Вплив короткочасної гіперглікемії на рівень синаптичної активності та параметри кальцієвих сигналів у нейронах дорсального рогу*Шипшина М.С., Маслов В.Ю., Веселовський М.С., Федулова С.А.*

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Гіперглікемія є наслідком неконтрольованих хронічних змін при діабеті, що призводять до істотних невропатичних змін на рівні як центральних, так і периферичних нейронів. В даній роботі визначали рівень синаптичної активності та параметри кальцієвих сигналів в нейронах дорсального рогу (ДР) при індукованому короткочасною гіперглікемією (КГ) нейрональному ураженні. КГ викликали збільшенням базової концентрації глюкози у культуральному середовищі до рівня 45 мМ протягом 4 годин. З використанням методу реєстрації струмів та потенціалів у конфігурації «ціла клітина» аналізували спонтанні глутаматергічні постсинаптичні струми (сЗПСС) в нейронах ДР та визначали параметри кальцієвих сигналів, що реєстрували при стимуляції цих нейронів імпульсами струму з різною частотою. КГ призводила до зниження частоти сЗПСС в нейронах ДР від $28,3 \pm 2,1 \text{ с}^{-1}$ до $18,8 \pm 2,2 \text{ с}^{-1}$ ($n=11$; $P<0,001$) у порівнянні з контролем, а також до несуттєвого, але статистично вірогідного, зменшення середніх значень амплітуд сЗПСС від $-45,7 \pm 4,7 \text{ пА}$ до $-30,7 \pm 2,8 \text{ пА}$ ($n=11$; $P<0,05$). Паралельно відзначали зменшення величини квантового вмісту від $2,22 \pm 0,23$ до $1,49 \pm 0,13$ ($n=11$; $P<0,05$). У розподілах амплітуд сЗПСС при КГ виявляли деяке зменшення частоти спостереження 2-, 3- та 4-квантових подій при явному збільшенні частоти 1-квантових відповідей. Під впливом КГ спостерігали зростання базової концентрації іонів кальцію в нейронах ДР від $104 \pm 6 \text{ нМ}$ ($n=6$) до $124 \pm 11 \text{ нМ}$ ($n=8$). Амплітуди кальцієвих сигналів лінійно залежали від частоти стимуляції нейронів ДР. Значення відповідного коефіцієнта пропорційності, що є динамічною характеристикою кальцієвого гомеостазу в клітинах, на фоні КГ суттєво знижувалось від $5,7 \pm 1,6 \text{ нМс}$ ($n=6$) до $2,5 \pm 0,8 \text{ нМс}$ ($n=8$). Паралельно спостерігали зменшення середніх значень максимальної амплітуди кальцієвого струму в нейронах ДР від $257 \pm 67 \text{ пА}$ ($n=6$) до $136 \pm 47 \text{ пА}$ ($n=8$).

Отримані дані свідчать про послаблення синаптичної активності в нейронних мережах культивованих нейронів ДР під впливом КГ, що може залучати зниження ефективності багатовезикулярного викиду глутамату в окремих синапсах даних нейронів. Також КГ призводить до збільшення базового рівня кальцію, зменшення амплітуди потенціал-залежного кальцієвого струму та ефективного зростання концентрації внутрішньоклітинного кальцію на один стимул.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

Антигемолітична ефективність хлорпромазину та його вплив на структурно-динамічний стан мембран еритроцитів

Чабаненко О.О., Шпакова Н.М., Орлова Н.В.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Україна, 61016, Харків, вул. Переяславська, 23, chabanenkoolena@gmail.com

Наразі відповідь клітини на стрес залишається важливою проблемою сучасної біології, що підлягає ретельному вивченню. Відомо, що на етапі заморожування клітини пошкоджуються в результаті спільної дії зміни температури та осмолярності розчину за рахунок льодоутворення. В роботі використовували холодний шок еритроцитів в якості моделі для вивчення дії факторів кріопошкодження на клітини. Відомо, що пошкодженню еритроцитів людини в умовах холодного шоку можуть запобігати амфіфільні сполуки, зокрема хлорпромазин [1]. В даний час інтерес до хлорпромазину (класичного транквілізатору, що використовується при лікуванні певних психічних розладів) зумовлений його протимікробними і протиухлинними властивостями [2, 3].

Мета – дослідити особливості стійкості еритроцитів різних видів ссавців (людина, щур, собака, кінь, бик і кролик) в умовах дії холодного шоку, антигемолітичну ефективність хлорпромазину та його вплив на структурно-динамічний стан еритроцитарних мембран.

Для здійснення холодного шоку еритроцити, які знаходились у розчині NaCl (0,15-2,00 моль/л), охолоджували від 37 до 0°C. Хлорпромазин (100 мкмоль/л) додавали в середовище при 0°C перед внесенням клітин. Рівень гемолізу еритроцитів визначали спектрофотометрично ($\lambda = 543$ нм). Структурно-динамічний стан мембран еритроцитів досліджували методом ЕПР спінових зондів за допомогою спін-мічених жирних кислот, що містять нітроксильний радикал у різних положеннях уздовж жирнокислотного ланцюга: аміду пальмітинової кислоти, 5- і 16-доксилстеаринових кислот. Всі експерименти проводилися з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

За допомогою кореляційного аналізу була визначена сила зв'язку між мембранними фосфоліпідами еритроцитів ссавців і характеристиками холодного шоку цих клітин (гемоліз в 0,8 моль/л NaCl, порогові концентрації NaCl). Встановлено, що більш стійкими до холодного шоку є еритроцити ссавців, мембрани яких характеризуються високим вмістом холестерину та неламелярних фосфоліпідів (сфінгомієліна і фосфатидилетаноламіна) і низьким вмістом фосфатидилхолінів. Встановлено, що хлорпромазин, який характеризується високим коефіцієнтом розподілу в еритроцитарній мембрані, проявляє антигемолітичну активність на рівні 70% в умовах холодного шоку еритроцитів всіх досліджуваних ссавців. Методом ЕПР спінових зондів показано зміну мікрров'язкості мембрани в області полярних голів і гідрофобних хвостів мембранних фосфоліпідів в присутності хлорпромазину. Можна припустити, що в основі захисної дії хлорпромазину при холодному шоці еритроцитів лежить здатність його молекул запобігати утворенню трансмембранних пор шляхом зміни стану ліпідних компонентів мембрани.

1. Shpakova N.M. (2009) Feasible mechanism of osmotic and temperature sensitivity correction of human erythrocytes using alkyl- β -D-glucopyranosides. *Probl. Cryobiol.*, 19(4), p449-460.
2. Alexandru T., Staicu A., Pascu A., Radu E., Stoicu A., Nastasa V., Dinache A., Boni M., Amaral L., Pascu M. L. (2015) Characterization of mixtures of compounds produced in chlorpromazine aqueous solutions by ultraviolet laser irradiation: their applications in antimicrobial assays. *J Biomed Opt.*, 20(5):051002. Available at: doi: 10.1117/1.JBO.20.5.051002.
3. Rundle-Thiele D., Head R., Cosgrove L., Martin J. H. (2016) Repurposing some older drugs that cross the blood-brain barrier and have potential anticancer activity to provide new treatment options for glioblastoma. *Br J Clin Pharmacol.*, 81(2), p199-209. Available at: doi: 10.1111/bcp.12785. (Accessed: 30 Oct. 2015).

Особливості синаптичних відповідей нейронів верхнього шийного ганглія у щурів із стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом

Настенко А.О., Пурнинь О.Е., Веселовський М.С.

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України

Верхній шийний ганглії (ВШГ) впливає на гладку мускулатуру. Він іннервує м'язи дилатори зіниці ока, а також впливає на тонус кровоносних судин. Цукровий діабет - це невиліковний метаболічний розлад в організмі, який викликає такі хронічні ускладнення, як поліневропатія, ретинопатія, катаракта та ін. Метою роботи було порівняти властивості синаптичних відповідей нейронів верхнього шийного ганглія у здорових щурів та щурів із стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом. Експерименти проводили на самцях щурів лінії «Вістар» віком 75 ± 10 днів. Цукровий діабет був індукований одноразовою інтрапарієтальною ін'єкцією стрептозотоцину (СТЦ) у концентрації 65 мг/кг маси тіла, розчиненим у 0,1 М цитратному буфері з рН 4,5. Після введення СТЦ, концентрація глюкози в крові збільшувалася до 30 ± 3 мМ. Через 30 днів після введення СТЦ, від нейронів ВШГ *in vitro* з використанням методу мікроелектродного відведення потенціалів у відповідь на стимуляцію шийного симпатичного нерва були зареєстровані збудливі постсинаптичні потенціали (ЗПСП). Записували контроль та дію 100 мкМ бензогексонія. Амплітуди ЗПСП у контрольних щурів склали $5,6 \pm 3,9$ мВ ($n=42$), а у щурів із СТЦ-індукованим діабетом $5,9 \pm 4$ мВ ($n=42$), відповідно. Після додавання бензогексонія в перфузійний розчин амплітуди ЗПСП зменшувались як у контрольних щурів, так і у щурів із СТЦ-індукованим цукровим діабетом і становили $1,8 \pm 0,7$ мВ ($n=8$) та $1,7 \pm 0,7$ мВ ($n=8$) відповідно. Блокуюча дія бензогексонія складала $70 \pm 5\%$ ($n=8$) і $70,4 \pm 2,1\%$ ($n=8$), відповідно. Статистично значущих відмінностей в амплітудах ЗПСП та блокуючій дії бензогексонія у щурів із СТЦ-індукованим діабетом виявлено не було. Ми припускаємо, що метаболічні зміни в організмі щурів, що викликані цукровим діабетом, не впливають на синаптичну передачу до нейронів ВШГ і на чутливість нікотинових ацетилхолінових рецепторів до бензогексонія, принаймні через 30 днів після введення СТЦ. Також була розрахована постійна часу спаду ЗПСП. У контрольних щурів вона становила $19,31 \pm 5,02$ мс ($n=21$), а у щурів із СТЦ-індукованим діабетом $22,76 \pm 4,91$ мс ($n=26$) відповідно. Отже у щурів із СТЦ-індукованим діабетом мембранний потенціал нейронів ВШГ після генерації ЗПСП повертається до базового рівня довше. Ми вважаємо, що ці відмінності можуть бути наслідком функціональних розладів у нейронах ВШГ за умов цукрового діабету і, можливо, пов'язані зі змінами провідності нейронних мембран до іонів K^+ або Cl^- .

Всі експерименти проводились відповідно до правил роботи з лабораторними тваринами в установах НАН України

Властивості інозитол-1,4,5-трифосфатних рецепторів нативної ядерної мембрани кардіоміоцитів

Котлярова А.Б.¹, Котик О.А.², Марченко С.М.³

^{1,2,3}Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, м. Київ, ¹annkotliarova@gmail.com, ²kotuk.lena@gmail.com

Розрізняють три ізоформи IP_3 -рецепторів, які характеризуються відмінними біофізичними властивостями, в тому числі афінністю до IP_3 та чутливістю до модулюючих факторів. У кардіоміоцитах експресуються, в основному, IP_3 -рецептори другого типу (IP_3R2) [1]. Більшість IP_3 -рецепторів у кардіоміоцитах розташована у ділянці навколо ядра, а також у самій ядерній мембрані [2]. В такому випадку, IP_3 потенційно може регулювати ядерні Ca^{2+} -залежні процеси незалежно від цитоплазматичних Ca^{2+} -залежних процесів шляхом селективного підвищення концентрації Ca^{2+} у ядрі [3]. Опубліковані дані про властивості рекомбінантних IP_3R2 дуже суперечливі, а експериментальні роботи з їх дослідження у нативному стані повністю відсутні, що і обумовило мету нашої роботи.

Дослідження виконано на щурах ліній Wistar та Fisher віком 3 тижні. Ізолювання ядер кардіоміоцитів здійснено як описано нами раніше [4]. Реєстрацію іонних струмів крізь ядерну мембрану здійснювали методом *patch clamp* у конфігурації *nucleus attached* або *excised patch*. Отримані результати піддавали математично-статистичній обробці з використанням програмного забезпечення *Clampfit* та *Origin*.

У нативній ядерній мембрані кардіоміоцитів нами зареєстровано іонний канал, котрий активується при додаванні IP_3 у камеру (0.2-20 мкМ) ($n=50$) та інгібується 2-APB (50 мкМ). На цій основі зроблено висновок, що зареєстрований канал є IP_3 -рецептором. Ймовірність відкритого стану IP_3Rs (P_o) є потенціалозалежною. При цьому вищу активність IP_3Rs спостерігали за додатних значень потенціалу, в цей час як на від'ємних значеннях їх активність зменшувалася. З'ясувалося також, що активність IP_3Rs ядерної мембрани кардіоміоцитів залежить від концентрації IP_3 . При цьому P_o досліджуваних рецепторів зростала зі збільшенням концентрації IP_3 і досягала максимуму за концентрації 10 мкМ IP_3 у середовищі.

У наступних серіях експериментів ми досліджували вплив іонів Ca^{2+} різної концентрації на активність IP_3 -рецепторів. Зокрема, нам вдалося зареєструвати два типи IP_3 -рецепторів, один з яких інгібується Ca^{2+} у високих концентраціях, що відповідає класичній картині дзвоноподібної залежності їх активності від концентрації Ca^{2+} і підтверджено літературними даними [5], згідно яких високі концентрації Ca^{2+} інактивують очищені кардіальні IP_3 -рецептори. Інший тип зареєстрованих нами IP_3Rs не інактивується навіть за наявності 1 мМ Ca^{2+} у середовищі.

Отже, властивості IP_3 -рецепторів нативної ядерної мембрани кардіоміоцитів різко відрізняються як від нейрональних IP_3 -рецепторів першого типу, так і генетично експресованих IP_3 -рецепторів другого типу. Ми припускаємо, що такі відмінності можуть бути зумовлені як впливом молекулярного оточення, так і посттрансляційними модифікаціями, котрі відбуваються з рецепторами і не можуть бути враховані при виконанні досліджень на генетично експресованих рецепторах. Такі відмінності фізіологічно є надзвичайно важливими, оскільки є визначальними для генерації Ca^{2+} -сигналу через ці рецептори.

Публікація містить результати досліджень, проведених за грантом Президента України за конкурсним проектом Ф75/29460 Державного фонду фундаментальних досліджень. Автори висловлюють подяку Павлові Н.І. за асистування при проведенні експериментів, а також Поліщук А.О. за допомогу на початкових етапах виконання проекту. Всі експерименти на тваринах проведено з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

1. Wu, X., Zhang, T., Bossuyt J., et al. (2006) Local $InsP_3$ -dependent perinuclear Ca^{2+} signaling in cardiac myocyte excitation-transcription coupling. *J. Clin. Invest.*, 116(3), 675-682.
2. Bare, D. J., Kettlun, C. S., Liang M., et al. (2005) Cardiac type 2 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor: interaction and modulation by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Biol Chem.*, 280, 15912-15920.
3. Marchenko, S.M., Thomas, R.C. (2006) Nuclear Ca^{2+} signalling in cerebellar Purkinje neurons. *The Cerebellum*, 5, 36-42.
4. Котик, О.А., Котлярова, А.Б., Марченко, С.М. (2018) Оптимізація методу ізолювання ядер для електрофізіологічних досліджень іонних каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів щура. *Фізіологічний журнал*. 64(2), 26-33.
5. Ramos-Franco, J., Fill, M., Mignery, G. (1998) Isoform-specific function of single inositol 1,4,5-trisphosphate receptor channels. *Biophys. J.* 75, 834-839.

The role of water in the hydration of blood cell membranes in the centimeter wavelength range

Batyuk L.V.¹, Kizilova N.N.^{2,3}, Berest V.P.³

¹ Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine, liliya-batyuk@ukr.net

² Warsaw University of Technology, Warsaw, Poland, n.kizilova@gmail.com

³ V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine, berest@karazin.ua

Investigations of dielectric properties of red blood cell and trombocytes represent practical interest as part of the diagnostics of the disease, so as a change in the structure of membranes of cells blood until their full destruction are a protective-adaptive reaction of organism. The membranes of blood cells are relatively permeable to water molecules [1, 2]. The water molecules can move either in or out of cells, regulated by osmotic pressure and the structure of the extracellular matrix. The structure of water is characterized by a spatial network of weak H-bonds, which is unstable, since H-bonds are easily destroyed and reappear. In the membranes of blood cells, water associates form various polygonal structures that are easily reconstructed under various influences: physical (heating and cooling, magnetic and electric fields) and chemical (influence of tumor markers, dissolving low-active gases, etc.). In a cell-water-membrane system, water, as a labile system, follows the principle of Le Chatelier-Brown, which describes the thermodynamic equilibrium of such systems. The equilibrium constant for the dynamical equilibrium between the free and bound water can be written as follows $k_1 / k_2 = e^{-\Delta G_0 / RT}$, where ΔG_0 is the difference in the hydrogen bond free energy, k_1 and k_2 are the rate constants of the exchange between free and bound states. By observing the free/bound water state it is possible to study structural conformation of the membranes of blood cells. This information can be received using UHF -dielectrometry method at centimeter wavelength range [3, 4].

The objective of this article is to present a model of dielectric relaxation of biological water in membranes of cells of blood based on a dynamic equilibrium between the free and bound water molecules. The dielectric relaxation frequency measurements of different solutions of blood cells were showed that the bound water molecules are expected to be more abundant than the molecules of free water [5]. A bound water molecule is engaged in two hydrogen bonds. The total energy of these two bonds is the activation energy that has to be overcome in order to give full orientation freedom to the water molecule. From the activated complex: $k_1 \approx \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G / RT}$ where $\Delta G = (\Delta G_1 + \Delta G_0)$,

ΔG_1 is the activation energy, k_B is the Boltzmann constant, h is the Planck's constant, R is the universal gas constant, T is the temperature. The dynamic model shows that the dielectric relaxation of water can be explained in terms of dynamic exchange between free and bound water and the strength of the hydrogen bonds. Our research shows that in the conditions of pathology, in the membranes of blood cells, a bound water molecule forms up to four hydrogen bonds and the frequency of dielectric relaxation of water molecules in the cells membrane depends on many parameters, such as the strength of the hydrogen bonds, the relaxation time, the values of the static dielectric permittivity of biological water, etc.

1. Kizilova, N., Batyuk, L., Cherevko, V. (2019) 'Human Red Blood Cell Properties and Sedimentation Rate: a Biomechanical Study' in Arkusz K. (ed.) *Biomechanics in Medicine and Biology*. Springer, Cham. pp. 3-22. https://doi.org/10.1007/978-3-319-97286-2_1

2. Batyuk, L.V., Kizilova, N.N., Muraveinik, O.A. (2018) Disturbance of erythrocytes membrane during ischemic and hemorrhagic stroke: assessment of proteins pathology. *8th Regional Biophysics Conference, Zrece, Slovenia: Book of Abstracts*, 80.

3. Hackl, E. V., Gatash, S.V., Nikolov, O. T. (2005) Using UHF-dielectrometry to study protein structural transitions. *J. Biochem. Biophys. Meth.*, 63(2), 137-148.

4. Batyuk, L. (2015) Influence of cancer disease on dielectric characteristic of structural-functional state of erythrocytes membranes. *ScienceRise. Medical Science*, 7/4(12), 11-17. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.47546>

5. Batyuk, L. V., Kizilova, N. N. (2018) Free and confined water at the erythrocyte membranes of healthy and invalid individuals: a microwave dielectric study. *Physics of Liquid Matter: Modern Problems: International Conference 8th International Conference PLMMP-2018, Book of Abstracts*, 30.

Effects of selective antagonist of asics in the LPS animal model of Parkinson's disease

Stefanenko M., Fedoriuk M., Bogovyk R., Semenikhina M., Krishtal O., Isaev D

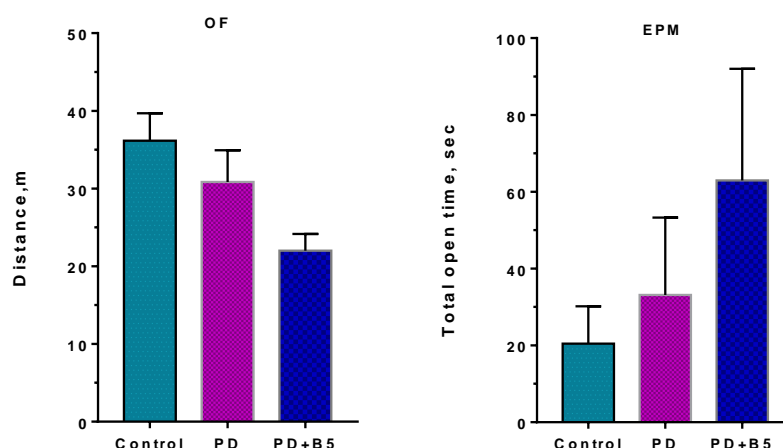
Department of Cellular Membranology, Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev, 01024, Ukraine, stefanenko maria3@gmail.com

Parkinson disease (PD) is chronic neurological disorder causes neuronal death in the brain limbic system. Massive death of dopaminergic neurons in substantia nigra results in PD behavioral and neurological changes. It was shown that GABA synaptic system, one of the main regulator of dopamine release, is undergo to pathological changes under PD condition. Previously we have shown that GABA synaptic activity in hippocampus depends on ASIC channels activation. In these set of experiments, we obtained preliminary data about influence of ASIC channels on the behavior of rats with LPS model of PD.

In this experiment we used 3 groups of adult male Wistar rats (weighing 250 g at start of baseline testing): PD+B5 group (n = 5, rats with injury of dopaminergic neurons, which was induced by 2µl LPS intranigral injection and then got 1mM dose of selective ASICs antagonist ([B5], intraperitoneal injection 20 min before tests)), PD group (n = 5, rats with injury of dopaminergic neurons induced in the same way), and control group (n = 5, sham-operated rats, which received the same dose of vehicle injections).

After 7 days we tested rats on Open field (OF) to assay general locomotor activity levels and anxiety. Each animal tested in OF was placed in the right top corner of the square arena (1.0 x 1.0 x 0.3 m). Total distance traveled and the amount of time spent in internal square of the arena was evaluated during a 5-min period and were recorded and analyzed by automated software.

Next day we tested rats on Elevated plus maze test (EPM). The apparatus for EPM consists of two opposite open arms (0.5 x 0.1 m) and two closed arms (0.5 x 0.1 x 0.4 m) elevated to a height of 0.5 m above the floor. The junction area of the four arms (central platform) measured 0.1 m x 0.1 m. For the EPM test each animal was placed on the center platform of the maze facing an open arm. Total time spent on the open/closed arms were evaluated during a 5-min period.



PD group demonstrates increased time in open arms as a sign of decreased natural alertness. ASIC channel blocker B5 results in increase of diverse behavior. In Open field test distance covered by rats for different groups: Control>PD>PD+B5.

Our data shows that ASIC channels could play role in behavior expression of PD.

All experimental procedures were performed in an accordance with international principles of the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes

Вплив кетаміну на mI_{CAT} гладеньких м'язів тонкого кишечника

Мельник М.І.¹, Дринь Д.О.¹, Боговик Р.І.¹, Косяк В.В.², Федорюк М.П.¹, Дзюба Д.О.², Жолос О.В.⁴

¹ Інститут фізіології імені О.О. Богомольця, відділ ФХБКМ, gribovamari@gmail.com;

² Київський академічний університет

³ НМАПО імені П.Л. Шупика, кафедра анестезіології та інтенсивної терапії;

⁴ КНУ імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини».

Кетамін є важливим компонентом збалансованої загальної анестезії у хірургічній практиці і одним з дисоціативних анестетиків, а останнім часом його стали розглядати як перспективний засіб проти хронічного болю та як антидепресант [1]. Він є сильним блокатором NMDA-рецепторів, але також чинить побічний вплив на ряд інших рецепторів та каналів клітини [1]. Наші попередні дослідження показали пригнічуючу дію інгаляційного анестетика ізофлурану на опосередкований TRPC4-каналом мускариновий катіонний струм (mI_{CAT}) гладеньком'язових клітин (ГМК) та скоротливу активність тонкого кишечника миші [2]. Враховуючи актуальність дослідження побічних ефектів кетаміну та важливу фізіологічну роль TRPC4-каналів, які щільно експресовані у ГМК тонкого кишечника та є визначальними у розвитку холінергічної збудливо-скоротливої реакції [3], метою даної роботи було з'ясувати можливість впливу даного анестетика на mI_{CAT} ГМК *ileum* миші.

Усі експерименти проводилися з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики на ізольованих ГМК відділу *ileum* тонкого кишечника мишей BALB/c (♂, 3 місяці), які виділялися ферментативним шляхом (в мг/мл: колагеназа тип 1A,1; інгібітор трипсину тип II-S,1; БСА,1) (36,8°C, 17 хв). mI_{CAT} реєстрували з використанням симетричних Cs⁺-розчинів (125 ммоль/л), методом patch-clamp в конфігурації whole-cell кожні 30 с 6-секундним Ramp-протоколом (від -120 до +80 мВ). Підтримуваний потенціал становив -40 мВ, опір петч-піпеток – 3,5-4,5 МОм. [Ca²⁺]_i фіксували на рівні 100 нмоль/л за допомогою (ммоль/л) 10 ВАРТА/4,6 CaCl₂. Кетамін аплікували у зовнішній розчин одразу після досягнення максимального струму у відповідь на внутрішньоклітинний ГТФγS. Усі результати нормовані на ємність клітини та представлені у вигляді середнього ± SEM (n=6).

Кетамін у доклінічній концентрації 100 мкмоль/л викликав часткове блокування mI_{CAT} , активованого додаванням у внутрішньопіпетковий розчин ГТФγS (200 мкмоль/л), який безпосередньо активує G-білки. Так, амплітуда нормованого максимального струму (I_{max}) становила -14,1±1,2 пА/пФ, а струм після досягнення стаціонарного інгібування (I_{inh}) -7,9±1,3 пА/пФ. Відповідно, ступінь інгібування ($M \pm m$) становив 43±8% (n=6). Та сама концентрація анестетика сильніше пригнічувала мускариновий струм, що був ініційований аплікацією карбахоліну (50 мкмоль/л). В цьому випадку I_{max} = -15,1±3,3 пА/пФ, I_{inh} = -5,5±0,9 пА/пФ та $M \pm m$ = 62±3%.

Отже, кетамін пригнічує як мускаринові рецептори, так і сигнальні шляхи за участю G-білків. Отримані результати вказують на можливі механізми розвитку післяопераційних порушень моторики кишечника та відкривають нові перспективи корекції таких станів.

1. Sleigh, J., Harvey, M., Voss, L., Denny, B. (2014) Ketamine: More mechanisms of action than just NMDA blockade. *Trends in Anaesthesia and Critical Care*, 4, 76-81.
2. Dryn, D., Luo, J., Melnyk, M., Zholos, A., Hu, H. (2018) Inhalation anaesthetic isoflurane inhibits the muscarinic cation current and carbachol-induced gastrointestinal smooth muscle contractions. *European Journal of Pharmacology*, 820, 39-44.
3. Tsvilovsky, V.V., Zholos, A.V., Aberle, T., Philipp, S.E., Dietrich, A., Zhu, M.X., Birnbaumer, L., Freichel, M., Flockerzi, V. (2009) Deletion of TRPC4 and TRPC6 in mice impairs smooth muscle contraction and intestinal motility in vivo. *Gastroenterology*, 137, 1415-1424.

Оцінка впливу кількості неушкоджених генів-супресорів у індивіда на ймовірність розвитку у нього онкозахворювання

Бондаренко М.А.¹, Книгавко В.Г.², Зайцева О.В.³

¹Харківський національний медичний університет, bondaren.koma3007@gmail.com

²Харківський національний медичний університет, vknigavko@gmail.com

³Харківський національний медичний університет, olgvaszay@gmail.com

Відповідно до сучасних уявлень про механізми канцерогенезу [1, 2] ушкодження або інактивація так званих генів-супресорів пухлини, або антионкогенів, різко збільшує ймовірність виникнення новоутворень. Відомо, що в людській популяції у різних індивідів при народженні кількість нормально функціонуючих генів-супресорів варіює. Метою роботи є оцінка впливу кількості неушкоджених генів-супресорів у індивіда на ймовірність розвитку у нього онкозахворювання.

Виходячи з того, що утворення пухлини - це імовірнісний процес, для його опису використовувалися закони і поняття теорії ймовірностей. На основі ймовірнісної математичної моделі канцерогенезу [3] проведена оцінка найбільш ймовірного віку (τ) індивіда, в якому виникає онкозахворювання, в залежності від кількості (k) непошкоджених антионкогенів у нього. Рівняння для розрахунку цього віку вирішено чисельно і має форму

$$\left(1 - \left(1 - \xi^{-\frac{\tau}{T}}\right)^k\right) \left(k \xi^{-\frac{\tau}{T}} - 1\right) = (N-1)k \left(1 - \xi^{-\frac{\tau}{T}}\right)^k \cdot \xi^{-\frac{\tau}{T}},$$

де T - тривалість одного циклу поділу клітини; $\xi = \frac{1}{1-\alpha}$, α - ймовірність пошкодження одного

гена-супресора в одному циклі ділення, N - максимальна кількість онкопотентних клітин у людини; k - початкова кількість генів-супресорів у довільно обраної людини. В результаті такої оцінки віку виникнення онкозахворювання було з'ясовано, що чим більше кількість неушкоджених генів-супресорів, присутніх у людини, тим більше ймовірність того, що вона захворіє раком у пізнішому віці.

Знаючи найбільш імовірний вік (τ) для розвитку раку у осіб з різною кількістю неушкоджених генів-супресорів (k), а також використовуючи експериментальні дані про ймовірність розвитку онкологічного захворювання залежно від віку пацієнта, було розраховано ймовірність розвитку раку у індивідуума за відповідною величиною числа генів (k). З'ясовано, що при $k \leq 3$ та $k \geq 7$ ймовірність розвитку раку практично дорівнює нулю, а значення кількості генів $k = 4; 5$ та 6 є значущими для розвитку раку.

Висновки. На основі ймовірнісної математичної моделі канцерогенезу проведено оцінку найбільш ймовірного віку виникнення онкозахворювання в залежності від кількості непошкоджених антионкогенів. Враховуючи також проведені розрахунки ймовірності виникнення онкозахворювання в залежності від віку хворого, оцінено залежність ймовірності виникнення онкозахворювання у індивіда від кількості наявних у нього непошкоджених антионкогенів. Після аналізу кількості генів-супресорів пухлини, пошкодження яких може бути причиною ініціації малігнізації клітини, значущими виявилися значення $k = 4; 5$ та 6 .

1. Rodriguez-Brenes, I.A., Komarova, N.L., Wodarz, D. (2014) Cancer-associated mutations in healthy individuals: assessing the risk of carcinogenesis. *Cancer Research.*, 74(6), 1661–1669.

2. Vogelstein, B., Kinzler, K. W. (2004) Cancer genes and the pathways they control. *Nat. Med.*, 10, 789–799.

3. Knigavko V.G., Radzishvskaja E.B., Bondarenko M.A. (2010) Mathematical modeling of carcinogenesis. *Biofizychnyj visnyk [Biophysical bulletin]*, 25(2), 93-100. (in Russian)

Роль кальцієвої АТФази ендоплазматичного ретикулума в регуляції короткотривалої пластичності гальмівної синаптичної передачі

Колесник О.П.¹, Федулова С.А.¹, Веселовський М.С.¹

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

Незважаючи на вже існуючі дані про короткотривалу пластичність гальмівної синаптичної передачі, проблема розкриття принципів та механізмів її регуляції, залишається далекою від остаточного вирішення. Кальційзалежна регуляція може бути наслідком процесів, пов'язаних із вивільненням кальцію з внутрішньоклітинного депо [1]. Існують експериментальні дані, які вказують, що кальцій, який вивільнюється з ендоплазматичного ретикулума бере участь у регуляції довготривалої пластичності синаптичної передачі [2] та впливає на частоту спонтанної активності [3]. Проте роль кальцієвого депо в регуляції саме короткотривалих змін в ефективності гальмівної синаптичної передачі досі є суперечливою.

В даній роботі ми досліджували короткотривалу модуляцію пластичності гальмівної синаптичної передачі через вплив на пресинаптичне кальцієве депо. Для електрофізіологічних експериментів використовували первину культуру дисоційованих нейронів гіпокампа щура (14-30 днів). Для вимірювання парних викликаних гальмівних постсинаптичних струмів (вГПСС) були застосовані методики фіксації потенціалу в конфігурації «ціла клітина» на постсинаптичній клітині та позаклітинної локальної електричної стимуляції аксона пресинаптичного нейрона. У зовнішньоклітинний розчин додавалися блокатори збуджуючої синаптичної передачі.

У досліджених нейронах, при стимуляції парою імпульсів з інтервалом 150 мс, спостерігалися депресія або полегшення гальмівної синаптичної передачі. Згідно з аналізом коефіцієнта варіації для першого та другого вГПСС у парі було з'ясовано, що короткотривала депресія та полегшення, що ми спостерігали, зумовлені тільки пресинаптичними механізмами. Спустошення депо ендоплазматичного ретикулума і, як наслідок, виключення його з участі у процесі генерації кальцієвого сигналу в пресинаптичних терміналях, викликалось за допомогою локальної аплікації селективних блокаторів кальцієвої АТФази. Аплікація циклопіазонової кислоти в концентрації 20 мкмоль/л призводила до зменшення амплітуд 1-го та 2-го вГПСС у парі на $21 \pm 3\%$ та $18 \pm 3\%$ відповідно, проте залишила майже не змінним значення коефіцієнта парної стимуляції (КПС) порівняно з контрольними ($n=8$). Також було з'ясовано, що існує недостовірною різниця в значеннях розрахованих коефіцієнтів варіації амплітуд вГПСС у контролі та при дії блокатора (відповідно $0,13 \pm 0,02$ та $0,16 \pm 0,02$). При аплікації тапсигаргіну в концентрації 1 мкмоль/л амплітуда 1-го та 2-го вГПСС у парі порівняно з контрольними значеннями зменшилися на $30 \pm 4\%$ і $28 \pm 4\%$ відповідно, проте значення КПС - залишилось незмінним ($n=16$). Також було з'ясовано, що існує недостовірною різниця в значеннях розрахованих коефіцієнтів варіації амплітуд вГПСС у контролі та при дії блокатора (відповідно $0,14 \pm 0,02$ та $0,16 \pm 0,03$). Отже, оскільки при аплікації селективних блокаторів кальцієвої АТФази ендоплазматичного ретикулума достовірних змін у коефіцієнтах парної стимуляції не було визначено як при депресії так і при полегшенні синаптичної передачі, можна зробити висновок, що спустошення пресинаптичного кальцієвого депо, через блокування АТФази, не впливає на регуляцію короткотривалої пластичності гальмівної синаптичної передачі між нейронами гіпокампа.

1. Baker K.D., Edwards, T.M. and Rickard, N.S. (2013) The role of intracellular calcium stores in synaptic plasticity and memory consolidation. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 37,1211–39.
2. Grigoryan, G., Korkotian, E. and Segal M. (2012) Selective facilitation of LTP in the ventral hippocampus by calcium stores. *Hippocampus*, 22,1635–44.
3. Emptage, N.J., Reid, C.A. and Fine, A. (2001) Calcium stores in hippocampal synaptic boutons mediate short-term plasticity, store-operated Ca^{2+} entry, and spontaneous transmitter release. *Neuron*, 29,197–208.

Електрофізіологічні властивості нейронів субепікардіального сплетіння щурів

Кравчук Л. І.¹, Кравчук Д. І.², Пурнинь О. Е.³

¹Київський академічний університет, lev.kravchuk@gmail.com

²Київський академічний університет, danny.kr@ukr.net

³Інститут фізіології ім. О.Богомольця НАН України, riss@biph.kiev.ua

Нейрони субепікардіального сплетіння отримують імпульси від автономної нервової системи та впливають на роботу серця. У відповідності до класичних досліджень В. П. Воробйова в серці описують шість субепікардіальних нервових сплетінь (В. П. Воробьев Избранные труды. К топографии нервных стволов и узлов сердца человека с. 181 – 187, 1958). Ціль роботи – визначення електрофізіологічних параметрів нейронів субепікардіального сплетіння з різних частин серця щурів.

Експерименти проводилися за допомогою методу одноелектродної фіксації струму (current clamp) при кімнатній температурі *in vitro* на ізольованих препаратах субепікардіальних сплетінь, що виділялися з зони правого передсердя та з зони розташування легеневих судин одномісячних щурів.

Були отримані пасивні параметри нейронів: значення мембранних потенціалів для всіх нейронів виявилися дуже близькими, $E_m \approx -46$ мВ ($n = 8$), середнє значення вхідного опору для клітин передсердя становило $R_{in} = (29,9 \pm 0,5)$ МОм ($n = 3$), а часової константи $\tau = (1,59 \pm 0,02)$ мс ($n = 3$), усереднена ємність клітини склала $C_{in} = (53 \pm 17)$ пФ ($n = 3$). Для нейронів з області легеневих судин вхідний опір нейронів становив $R_{in} = (31,6 \pm 0,5)$ МОм ($n = 3$). Часова константа набувала в середньому значення $\tau = (2,85 \pm 0,97)$ мс ($n = 3$). Значення ємностей клітин становлять $C_{in} = (90 \pm 15)$ пФ ($n = 3$).

Була підрахована амплітуда слідової гіперполяризації (АНР), тривалість відновлення мембранного потенціалу: АНР₅₀ (50%) та АНР₈₀ (80%) . Максимальна амплітуда слідової гіперполяризації нейронів передсердя склала 0,875 мВ ($n = 3$). При чому АНР₅₀ = $(8,8 \pm 0,1)$ мс ($n = 3$), АНР₈₀ = $(27,8 \pm 0,1)$ мс ($n = 3$). АНР нейронів із зони легеневих судин становила 15,25 мВ та 6,75 мВ. Відповідно тривалість відновлення набувала значень АНР₅₀ = $(15,7 \pm 0,1)$ мс, АНР₈₀ = $(49,0 \pm 0,1)$ мс.

Реобазу для досліджених нейронів з різних зон склала $0,6 \div 0,7$ нА ($n = 6$), а хронаксія відповідає τ . Таким чином, в залежності від місця розташування нейрони субепікардіальних сплетінь можна поділити на дві групи за їх електрофізіологічними параметрами: перша група нейронів – це нейрони з меншою хронаксією та тривалістю АНР (зона передсердя), що дає можливість клітині швидше давати відповідь на збудження та відновлювати мембранний потенціал до вихідного стану; друга група – з більшою хронаксією та тривалістю АНР.

Всі експерименти проводились з дотриманням вимог чинного законодавства, норм біоетики та правил роботи з лабораторними тваринами в установах НАН України.

Electrophysiological properties of subepicardial plexus neurons of rats

L. Kravchuk¹, D. Kravchuk², H. Purnyn³

¹Kyiv Academic University, lev.kravchuk@gmail.com

²Kyiv Academic University, danny.kr@ukr.net

³Bogomoletz Institute of Physiology, riss@biph.kiev.ua

Subepicardial plexus neurons get impulses from autonomic nervous system and affect on heart's work. According to the classical research of V. P. Vorobyev in the heart six subepicardial nerve plexuses are described (В. П. Воробьев, Избранные труды. К топографии нервных стволов и узлов сердца человека р. 181 - 187, 1958). Purpose of the work - determination of electrophysiological parameters of neurons of subepicardial plexus from different parts of the heart of rats.

Experiments were performed using the method of single-electrode current clamp at room temperature *in vitro* on isolated preparations of subepicardial plexuses, isolated from the right atrium and from the pulmonary arteries location zone of one-month-old rats.

Passive parameters of the neurons were obtained: the values of the membrane potentials for all neurons were very close, $E_m \approx 46$ mV ($n = 8$), the average value of the input resistance for atrial cells was $R_{in} = (29.9 \pm 0.5)$ M Ω ($n = 3$), and the time constant $\tau = (1.59 \pm 0.02)$ ms ($n = 3$), the average cell capacity was $C_{in} = (53 \pm 17)$ pF ($n = 3$). The input resistance of the neurons was $R_{in} = (31.6 \pm 0.5)$ M Ω ($n = 3$) for neurons from the field of pulmonary vessels. The time constant acquires an average value $\tau = (2.85 \pm 0.97)$ ($n = 3$). The values of cell capacities are $C_{in} = (90 \pm 15)$ pF ($n = 3$).

The amplitude of the afterhyperpolarization (AHP), the duration of membrane potential recovery: AHP₅₀ (50%) and AHP₈₀ (80%) were calculated. The maximum amplitude of the hyperpolarization trace of the atrium neurons was 0.875 mV ($n = 3$). In addition, AHP₅₀ = (8.8 ± 0.1) ms ($n = 3$), AHP₈₀ = (27.8 ± 0.1) ms ($n = 3$). AHP of neurons from the pulmonary vascular zone was 15.25 mV and 6.75 mV. Accordingly, the recovery time has reached the values AHP₅₀ = (15.7 ± 0.1) ms, AHP₈₀ = (49.0 ± 0.1) ms.

Rheobase for investigated neurons from different zones was $0.6 \div 0.7$ nA ($n = 6$) and chronaxie corresponds to τ . Thus, depending on the location of the neurons of the subepicardial plexus, it is possible to divide into two groups according to their electrophysiological parameters: the first group of neurons is the neurons with less chronaxie and the duration of AHP (a zone of the atrium), which enables the cell to respond faster to excitation and restore the membrane potential to the initial state; The second group, with more chronaxie and duration of AHP.

All experiments were conducted in compliance with the requirements of the current legislation, norms of bioethics and the rules of work with laboratory animals at the institutions of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Моделювання ацетилхолінового мускаринового катіонного струму гладеньком'язевих клітин тонкого кишечника

Анюхін А.Ю.¹, Жолос О.В.^{1,2}

¹КНУ ім. Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», кафедра біофізики та медичної інформатики, aniukhin@knu.ua.

²Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, відділ фізико-хімічної біології клітинних мембран, a.zholos@univ.net.ua.

Парасимпатична нервова система відіграє ключову роль у регуляції моторики шлунково-кишкового тракту. Цей процес відбувається через активацію M_2 та M_3 мускаринових рецепторів, що в свою чергу активує мускариновий ацетилхоліновий струм, який протікає через TRPC4 та TRPC6 катіонні канали [1, 2]. Побудова кінетичної моделі є важливим етапом у з'ясуванні ролі цього процесу в нормі та патології, які важко встановити у моделі *in vitro*.

Мета роботи – створити модель кінетики ацетилхолінового мускаринового катіонного струму, яка здатна адекватно відображати експериментальні дані та порівняти отримані результати з існуючими моделями.

Для моделювання був створений обчислювальний алгоритм мовою програмування Python, за допомогою якого отримали стаціонарні значення активації струму та їх параметри, які фітувались сумою двох рівнянь Хіла, а також визначили залежності часових констант від концентрації агоністу. Експерименти проводилися на окремих гладеньком'язевих міоцитах з повздовжнього шару тонкого кишечника (ileum) мурчаків. Клітини виділялись методом ензиматичної та механічної ізоляції. Концентрації агоністу додавались кумулятивним шляхом (1, 3, 10, 30, 100 та 300 μM карбахолу) кожні 20 – 25 хв. Інтегральний трансмембранний струм реєстрували методом patch-clamp в конфігурації whole-cell.

В результатах для методу 2 (Табл. 1) отримали два коефіцієнти Хіла, один з яких завжди мав позитивну, а інший негативну кооперативність на відміну від методу 1, де кооперативність процесу коливалась в широких межах. Запропонована модель з сумою двох рівнянь Хіла виявилась більш точною для опису мускаринового ацетилхолінового струму та краще відображала реальні процеси його генерації.

	Метод 1 (n=21)	Метод 2 (n=21)	(1)	(2)
I_{\max} (nA)	2.51 ± 0.76	$I_{\max 2} / I_{\max 1}$	3.6 ± 2.64	
EC_{50} (μM)	7.63 ± 4.17	EC_{50} (μM)	13.12 ± 4.57	4.97 ± 2.61
Hill slope (P)	1.36 ± 0.56	Hill slope (P)	0.78 ± 0.2	2.7 ± 0.58

Табл. 1. Порівняння параметрів моделей стаціонарної активації мускаринового ацетилхолінового катіонного струму. Метод 1 – параметри для стандартного рівняння Хіла. Метод 2 – параметри фітування для суми двох рівнянь Хіла. EC_{50} – напівмаксимальна ефективна доза; p – коефіцієнт Хіла, I_{\max} – значення максимального струму, $I_{\max 2} / I_{\max 1}$ – відношення значень максимальних струмів для методу 2.

Всі експерименти на твариних проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

1. Zholos A.V., Bolton T.B., (2009) Muscarinic receptor subtypes controlling the cationic current in guinea-pig ileal smooth muscle. *British Journal of Pharmacology*, 114, 885-893.

2. Zholos A.V. (2006) Regulation of TRP-like muscarinic cation current in gastrointestinal smooth muscle with special reference to PLC/InsP₃/Ca²⁺ system. *Acta Pharmacologica Sinica*, 7, 833–842.

Effects of amyloid β 1-42 and Cyclosporin A on neuronal membrane calcium channels in culturing hippocampal neurons

Yavorsky V.A.¹, Kravenska E. V.¹, Melnick I.V.¹, Rozumna N.M.¹, Lukyanetz E.A.¹

¹Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, jva@biph.kiev.ua, elena@biph.kiev.ua

The presence of amyloid plaques and neurofibrillary tangles accompanied by manifestations of intense neurodegeneration in the brain is the main syndrome of Alzheimer's disease (AD) [3]. Until now, the mechanisms underlying neurotoxic properties of the protein specific with respect to AD (amyloid β 1-42, A β) have not been fully interpreted. Here we describe our results obtained in studies of amyloid β 1-42 and Cyclosporin A effects on neuronal membrane calcium channels in culturing hippocampal neurons. Our study was carried out on the AD model that was obtained by 24-h-long culturing of hippocampal cells in the presence of 2.0 μ M A β [2]. We evaluated the influence of such incubation on membrane calcium currents of hippocampal neurons by measurements of the changes in time and amplitude current parameters. To determine the possible impact of the mitochondrial pore in the calcium signalling changes during A β treatment, we used its specific blocker - 1.25 μ M Cyclosporin A (CsA) prior to A β administration. The patch-clamp method in the "whole cell" configuration was used to register calcium current in neurons, selected on the basis of pyramidal shape. Calcium density was estimated as ratio of maximal calcium current per membrane capacitance. In our experiments we found that the average values of the calcium current density were 8.2 ± 4.1 pA/pF ($n = 18$) in the A β group and 9.9 ± 6.8 pA/pF ($n = 23$) in A β with CsA ones. They differed not statistically significant from those in the control group (7.9 ± 5.2 pA/pF; $n = 16$). The analysis did not reveal the relationship or dependence of the calcium current amplitude or its normalized value by cell capacitance on itself neuron's capacitance in all these groups. The only difference was that in the A β group, 3 cells (16% to all neurons in group) demonstrated the maximum of the calcium current at 0 mV stimuli in the step protocol. The similar cells were observed in the A β with CsA group (13%), whereas all control neurons had a maximum calcium current within voltage range from +5 to +15 mV. Thus we obtained that the chronic action of amyloid did not change significantly the maximum amplitude of calcium current density in cultured hippocampal neurons (total 57 cells). Only minor changes of maximal amplitude voltage of calcium current were present under A β regardless CsA action. Taking into account the data of other authors, which have shown that effect of A β depended on length and aggregation state of the peptide [1,4,5], we concluded that under the conditions of our experiments, there were no significant changes in the calcium entry after incubation neurons with A β and CsA, although a part of cells showed a hyperpolarization shift in the current-voltage characteristic of calcium channels.

All experiments with animals were carried out in accordance with the rules of the national law and the norms of bio-legislation.

1. Korol, T. Yu., Kostyuk, E. P., Kostyuk, P. G. (2010) Effect of β -amyloid Peptide on Plasmalemmal Calcium Channels in Cultured Hippocampal Neurons. *International Journal of Physiology and Pathophysiology*, 1, 1-7.
2. Kravenska, E. V., Ganzha, V. V., Yavorskaya, E. N., Lukyanetz, E. A. (2016) Effect of Cyclosporin A on the Viability of Hippocampal Cells Cultured under Conditions of Modeling of Alzheimer's Disease. *Neurophysiology*, 48, 246-251.
3. Marchesi, V. T. (2011) Alzheimer's dementia begins as a disease of small blood vessels, damaged by oxidative-induced inflammation and dysregulated amyloid metabolism: implications for early detection and therapy. *FASEB J.*, 25, 5-13.
4. Mezler, M., Barghorn, S., Schoemaker, H., Gross, G. & Nimrich, V. (2012) A β -amyloid oligomer directly modulates P/Q-type calcium currents in *Xenopus* oocytes. *British J. Pharmacology*, 165, 1572-1583.
5. Ramsden, M., Henderson, Z., Pearson, H. A. (2002) Modulation of Ca channel currents in primary cultures of rat cortical neurones by amyloid β protein (1-40) is dependent on solubility status. *Brain Res.*, 956, 254-261.

Effects of amyloid β 1-42 on impulse activity of rat isolated hippocampal neurons**Rozumna N.M.¹, Yavorsky V.A.¹, Kravenska E. V.¹, Lukyanetz E.A.¹**¹Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, nata_nr@biph.kiev.ua, jva@biph.kiev.ua, elena@biph.kiev.ua

Alzheimer's disease is a common neurodegenerative disease and is characterized by severe impairment of memory and other cognitive functions, with the development of extensive degenerative brain damage in the late stages [4]. One of the main factors in the pathogenesis of Alzheimer's disease is amyloid β 1-42 ($A\beta$). The neurotoxic effect of soluble $A\beta$ oligomers and their fibrils leads to the death of synapses and neurons in the hippocampus and neocortex [2]. However, the direct effects of $A\beta$ monomers particularly on the impulse activity of neurons are not fully understood. Here we describe our results obtained in studies of the impulse activity recorded from acutely isolated neurons of the hippocampal CA1 area in the perforated patch-clamp configuration. In contrast to whole-cell technique, it gives a possibility to register stable self-bursting activity for tens of minutes due to preserving internal content of soma. Spiking was evoked by two modes of intracellular stimulation, namely by application of rectangular 2.5-sec-long current pulses or a ramp protocol (5-sec-long inward current ramp lined from 0 up to 200 pA) [5]. In first case we got accommodational properties of neuron firing, while the later stimuli was used for direct measuring of neuronal activation function (e.g. relationship of input signal to firing frequency). We found that impulse generation of a neuron with fast-spiking activity has undergone the marked changes under influence of bath application of 200 nM – 10 μ M $A\beta$. The amyloid application caused a fast increase in the frequency of generation, and also lowered the threshold for the beginning of self-spiking in the ramp-protocol with slow increasing stimulus amplitude. Washing with control solution either did not remove the effect of amyloid, or diminished it slightly. $A\beta$ increased the neuronal ability to maintain long-lasting generation in conditions of significant depolarization by 100 pA inward current or above, whereas the cells had no endogenous bursting in control. Merely half of neurons were activated by $A\beta$ 200-500 nM with lowering spiking threshold from 20-30 pA down to 7-10 pA but with minor changes in spiking frequency under stimuli amplitude 40-100 pA. Similar results of increased excitability under the influence of $A\beta$ have been observed by other authors. For example, the ongoing activity of neurons in both young and old transgenic groups with early-onset Alzheimer's disease showed signs of hyperexcitability in the depolarized state of the membrane potential [3]. It has also been established that counteracting the negative effects of $A\beta$, the compensatory mechanisms are activated. For example, these are the formation of antibodies to β -amyloid, the activation of antioxidant systems and prooncogenes that inhibit apoptosis, the induction of neurogenesis, the increase in the "density" of neurotransmitter receptors [1]. Therefore, we suppose that the observed changes in impulse activity are manifestations of some compensatory functions during harmful influence of $A\beta$ on neuronal activity.

All experiments with animals were carried out in accordance with the rules of the national law and the norms of bio-legislation.

1. Esposito, E., Rotilio, D., Di Matteo, V., Di Giulio, C., Cacchio, M., Algeri, S. (2002) A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiol Aging*, 23, 719-735.
2. Haass, C., Selkoe, DJ. (2007) Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8, 101-112.
3. Kellner, V., Menkes-Caspi, N., Beker, S., Stern, E. A. (2014) Amyloid- β alters ongoing neuronal activity and excitability in the frontal cortex. *Neurobiol Aging*, 35, 1982-1991.
4. Terry, R.D., Masliah, E., Salmon, D.P., Butters, N., Deteresa, R., Hill, R., Hansen, L.A., Katzman, R. (1991) Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: Synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol*, 30, 572-580.
5. Yavorskii, V. A., Lukyanetz, E. A. (2012) Evoked impulse activity of isolated hippocampal neurons in the perforated patch-clamp configuration. *Neurophysiology*, 43, 417-424.

Inhibition of par1 affects on emotionally-modulated behaviour and synaptic plasticity in rat at lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy

Semenikhina M., Bogovyk R., Fedoriuk M., Nikolaienko O., Savotchenko A., Isaeva E.

Department of Cellular Membranology, Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev, 01024, Ukraine

Brain injuries are accompanied by the blood-brain barrier (BBB) damaging. Consequences of BBB dysfunction can greatly affect neuronal excitability and induce epileptic seizures. (Van Vliet *et al.*, 2016) Inhibition of protease-activated receptor 1 (PAR1), the major thrombin receptor in the brain, (Macfarlane *et al.*, 2001) produces an anti-epileptogenic and neuroprotective effects in an experimental model of temporal lobe epilepsy (TLE). (Isaev *et al.*, 2015) Since serine proteases and PAR1 are implicated in the synaptic plasticity (Maggio *et al.*, 2013) and memory formation, (Almonte *et al.*, 2013) the aim of the present study was to evaluate the involvement of PAR1 in synaptic plasticity and behavior deficits following SE. Using lithium-pilocarpine model of TLE, we demonstrate that inhibition of PAR1 rescues SE-induced synaptic plasticity deficits in CA1 region of hippocampus. Although treatment with PAR1 antagonist does not ameliorate spatial learning deficits, it attenuates anxiolytic-like behavior in experimental rats after SE. Taken together; our data suggest an important role of PAR1 in SE-induced synaptic and behavioral alterations and provide a new insight into the cellular mechanisms underlying behavioral impairments associated with epilepsy.

All experimental procedures were performed in an accordance with international principles of the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (European convention, Strasbourg, 1986); the Law of Ukraine "On protection of animals from cruelty" and approved by the Animal Care Committee of Bogomoletz Institute of Physiology.

1. Van Vliet E.A. *et al.* (2016) 'Blood-brain barrier leakage after status epilepticus in rapamycin-treated rats II: Potential mechanisms', *Epilepsia*. 57, pp. 70–78. doi:10.1111/epi.13245.
2. Isaev D. *et al.* (2015) 'Contribution of protease-activated receptor 1 in status epilepticus-induced epileptogenesis', *Neurobiol. Dis.* 78 68–76. doi:10.1016/j.nbd.2015.03.026.
3. Macfarlane S.R. *et al.* (2001) 'Proteinase-activated receptors', *Pharmacol. Rev.* 53 245–82.
4. Maggio N. *et al.* (2013) 'Thrombin regulation of synaptic transmission: Implications for seizure onset', *Neurobiol. Dis.* 50 171–178. doi:10.1016/j.nbd.2012.10.017.
5. Almonte A.G. *et al.* (2013) 'Protease-activated receptor-1 modulates hippocampal memory formation and synaptic plasticity', *J. Neurochem.* 124 (2013) 109–22. doi:10.1111/jnc.12075.

Effect of hypoxia on calcium signalling in cerebellar neurons of rat brain

Lukyanets I.A.¹, Melnick I.V.¹, Lukyanetz E.A.¹

¹Department of Biophysics of Ion Channels, Bogomoletz Institute of Physiology, NASU, Kyiv, Ukraine, ilukyan@biph.kiev.ua, igorm@biph.kiev.ua, elena@biph.kiev.ua

It is well known, that brain hypoxia is a serious neurological disease associated with lack of oxygen in the brain due to different reasons. Despite that a lot of experiments were fulfilled in this field, many questions still remain unclear. Previously we examined the calcium intracellular signalling in the cerebellar neurons of carassius, which belongs to the hypoxia tolerant species (1-5). The aim of experiments presented here, was to study the changes of intracellular calcium signaling under the influence of hypoxia in cerebellar mammalian neurons, namely of rats. Intracellular calcium concentration was measured using a calcium - sensitive dye Fura-2AM and microfluorescent method to measure free intracellular calcium concentration. We used the polarographic method for a partial oxygen pressure measuring within the cell washing solution. To create hypoxic conditions, we used chemical hypoxia by using 2 mM sodium hyposulphite. The level of partial pressure of oxygen was measured online during the experiments. In our studies we compared the amplitude of calcium transients caused by membrane depolarization with KCl in neurons under control conditions and after applying the hypoxic solution. Our experiments have shown that hypoxia caused an increase in intracellular calcium levels in cerebellar neurons of rats. Thus, the amplitude of calcium transients in these neurons was increased by 1,5-2,5-fold compared with the level of calcium in the control conditions. Also, we found that the kinetics of calcium transients declined to the basal level significantly slower under hypoxia than in the control conditions. Since the withdrawal of calcium from the cytoplasm during hypoxia was almost four times slower than the action KCl solution. Therefore, we concluded that cerebellar neurons possess a high sensitivity of to hypoxic conditions.

All experiments with animals were carried out in accordance with the rules of the national law and the norms of bio-legislation.

1. Lukyanets IA, Lukyanetz EA. Modulation of Calcium Signalling by the Endoplasmic Reticulum in Carassius neurons Biochem Biophys Res Commun. 2013, v. 433, Issue 4 591–594
2. Lukyanets IA, Kostyuk PG, & Lukyanetz EA . Participation of Ca(2+)-ATPase in calcium homeostasis of cerebellar neurons in crucian. Fiziol Zh 55, 2009 24-31
3. Lukyanets IA & Lukyanetz EA. Calcium signalling during hypoxia in fish Carasius gibelio Fiziologicheskii Zhurnal 55[6], 2009 p. 129-130
4. Lukyanets IA, Kostyuk PG, & Lukyanetz EA. Participation of mitochondria in calcium signalling of cerebellar neurons in crucian Neurofiziologiya/Neurophysiology 41[6]. 2009. p. 445-449.
5. Lukyanets IA, Kostyuk PG, & Lukyanetz EA Participation of Ca(2+)-transporting systems of plasma membrane in calcium exchange of neurons from carasius cerebellum. Neurofiziologiya/Neurophysiology 41[4], (2009). p. 281-287

Influence of NGF on Kv1.2 potassium channel expression in PC12 cells under hypoxia

N. Bogdanova, S. Kozin, N. Pogorelaya, I. Magura, E.A. Lukyanetz

Bogomoletz Institute of Physiology NANU, Kyiv, Ukraine, bogdanovatali@gmail.com

The ability of the cells to sense and to respond to the decreasing of oxygen content is very important for their survival in mammal and human organisms. Specific (chemoreceptor) cells can quickly sense and respond to the O₂ level drops. Chemoreceptor cell reaction to oxygen content, results in optimization of cardiovascular system functions and respective lung reaction. Thus it controls oxygen supply to vital organs and preventing local/global oxygen deficit which, in turn, can cause irreversible cell damage and death of the whole organism.

Potassium channels are the most diverse group of the ion channel family [2]. They are important in shaping the action potential, and in neuronal excitability and plasticity [3]. Kv1.2 channels are uniformly distributed in the heart and brain. They play diverse functional roles in several neuronal compartments, especially in the regulation of pre- and post-synaptic membrane excitability. They can play important role in the developing of the responses of the nerve cells to hypoxia by changing membrane potential [4]

PC12 cell lines that are capable to demonstrate neuronal properties under certain conditions are useful model systems for nervous system research both on single-cell and on molecular levels. PC12 cell line – a derivative of rat adrenal chromaffin cells – is commonly used for investigation of hypoxia influence on neurons. It is known that Nerve growth factor (NGF) is produced rapidly in some tissues after brief ischemia. It contributes to the maintenance of neural integrity in several tissues [5].

Here, we investigated influence of NGF on Kv1.2 potassium channel expression in PC12 cells under chemically induced hypoxia to evaluate the possible protective role of exogenous NGF. We found that relative Kv1.2 channel gene expression in undifferentiated PC12 cells increased by 28% under hypoxia conditions as compared to normoxia. On the other hand, the Kv1.2 channel gene expression in cells of NGF-differentiated samples decreased by 27.9% under the same hypoxic conditions. This result obviously testifies to clear response of cell genetic apparatus to hypoxic stress via potassium channel transcription factor activation followed by respective increase/decrease in concentration of transcription products in the cytosol. We assume that NGF can inhibit a cascade of hypoxia-induced reactions coupled to Kv1.2-channel gene expression activation.

All experiments with animals were carried out in accordance with the rules of the national law and the norms of bio-legislation.

1. Clapham, D. E., Runnels, L. W. & Strubing, C. (2001) The TRP ion channel family. *Nature Reviews Neuroscience*, 2, 387-396.
2. Perney TM1, Kaczmarek LK. The molecular biology of K⁺ channels. *Curr Opin Cell Biol.* Aug;3(4):663-70, 1991
3. Tempel BL1, Jan YN, Jan LY. Cloning of a probable potassium channel gene from mouse brain. *Nature.* Apr 28;332(6167):837-9, 1988
4. Yavorskii V. A., Pogorelaya N. Kh., Bogdanova N. A., Lukyanetz E. A. *Neurophysiology* , 43, 3, 201–204, 2011
5. Abe T1, Morgan DA, Gutterman DD. Protective role of nerve growth factor against postischemic dysfunction of sympathetic coronary innervation. *Circulation.* 1997 Jan 7;95(1):213-20.

Роль механочутливих TRPV4 каналів у регуляції скоротливості міометрію людини

Дрозд О.¹, Лаврик Р.², Лазоренко І.², Мороз О.², Жолос О.²

1 – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, xenia.drozd@gmail.com

2 – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», Roman.Lavryk@ex.ua, enoshkiev@gmail.com, olesia.moroz@gmail.com, a.zholos@univ.net.ua

TRPV4 відносяться до класу мембранних потенціал-незалежних катіонних осмо- та механочутливих каналів (White *et al.*, 2016). Їх експресія показана для гладеньком'язових клітин (ГМК) матки мишей, щурів і людини. Виявлено, що експресія та активність каналів зростають з перебігом вагітності, а відповідь клітин на стимуляцію окситоцином є менш потужною за умов блокування цих каналів (Singh *et al.*, 2015; Ying *et al.*, 2015; Ying, Alvira and Cornfield, 2016). Дослідження на міометрії вагітних жінок є актуальним, оскільки більшість робіт в цьому напрямку проведено на тваринах, а також тому, що фармакологічні препарати, які змінюють активність каналу, можуть бути потенційними засобами зупинки передчасних скорочень матки або ж стимуляції в разі їх недостатності. Метою даного дослідження було з'ясувати характер впливу агоніста та блокатора TRPV4 каналів на нестимульовану скоротливу активність міометрію жінок в терміні пологів та за умов дії окситоцину.

Дослідження проводились на смужках міометрію людини, отриманих за згодою пацієнтки під час елективного кесарського розтину на 38-40 тижні вагітності. Силу скорочень реєстрували методом тензометрії. Отримані дані обробляли в Clampfit 11.0.3, Origin 2017 та InStat. Додавання до зовнішнього розчину агоніста каналів GSK1016790A (0,3 мкмоль/л) збільшувало тонус гладеньком'язових смужок, про що свідчить значення приросту сили скорочення ($1,21 \pm 0,03$; $n=8$; $P<0,001$). Половина препаратів відповідали на аплікацію агоніста поодинокими фазними скороченнями, що може вказувати на підвищення збудливості ГМК за умов активації TRPV4 каналів. Ефект агоніста усувався додаванням блокатора каналів HC067047 (1 мкмоль/л). Зокрема, зафіксовано спад сили скорочення ($0,67 \pm 0,16$; $P<0,01$). На фоні дії HC067047 спонтанних скорочень не виникало. В експериментах з використанням HC067047 при перфузії смужок окситоцином (10 нмоль/л) одна група препаратів ($n=4$) демонструвала зростання сили скорочення, представленої як відношення амплітуди піків за умов дії блокатора на фоні окситоцину до такої на фоні лише окситоцину (F/F_0), що становило $1,33 \pm 0,22$ ($P<0,01$), а обчислена як площа під кривою робота м'язового препарату і виражена через відношення A/A_0 складала $1,46 \pm 0,39$ ($P<0,05$). Інша група смужок ($n=4$), навпаки, відреагувала припиненням скоротливої активності та зниженням тонусу смужок на 51 % ($F/F_0=0,51 \pm 0,10$; $P<0,05$).

Отже TRPV4 катіонні канали стимулюють скоротливу активність та, ймовірно, підвищують збудливість клітин міометрію людини при доношеній вагітності. Антагоністи цих каналів можуть виступати потенційними засобами для зниження тонусу та запобігання передчасним скороченням вагітної матки. Участь TRPV4 каналів у регуляції стимульованої окситоцином активності вагітної матки жінок потребує подальшого дослідження.

1. Singh, V. *et al.* (2015) 'Molecular and functional characterization of TRPV4 channels in pregnant and nonpregnant mouse uterus', *Life Sciences*, 122, pp. 51–58. doi: 10.1016/j.lfs.2014.12.010.
2. White, J. P. M. *et al.* (2016) 'TRPV4: Molecular Conductor of a Diverse Orchestra', *Physiological Reviews*, 96(3), pp. 911–973. doi: 10.1152/physrev.00016.2015.
3. Ying, L. *et al.* (2015) 'The transient receptor potential vanilloid 4 channel modulates uterine tone during pregnancy.', *Science translational medicine*, 7(319), p. 319ra204. doi: 10.1126/scitranslmed.aad0376.
4. Ying, L., Alvira, C. M. and Cornfield, D. N. (2016) 'A Role for the Transient Receptor Potential Vanilloid 4 Channel in Modulating Uterine Tone During Pregnancy', *The FASEB Journal*, 30(1_supplement), p. 1012.4-1012.4. doi: 10.1096/fasebj.30.1_supplement.1012.4.

Model mass spectrometric study of antimalarial artemisinin-type agents interactions with ascorbic acid and membrane phospholipids

Pashynska V.A.¹, Kosevich M.V.¹, Gomory A.², Vekey K.²

¹ B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, Nauki Avenue, 47, 61103 Kharkiv, Ukraine, e-mail: pashynska@ilt.kharkov.ua

² Institute of Organic Chemistry of Research Centre for Natural Sciences of the Hungarian Academy of Sciences, Magyar tudosok korutja 2, Budapest, H-1117, Hungary

Antimalarial agent artemisinin and its derivatives are currently successfully used to treat severe or multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria, although our knowledge of molecular mechanisms of their action and their main pharmacological features (including their absorption, penetration through the cell membrane, and their intermolecular interactions with different biomolecules and other drugs) is still incomplete. Such data are particularly important in the case of using recommended by the WHO Artemisinin Combination Therapy or application of artemisinin-type agents together with anti-inflammatory or vitamin medications. Our previous electrospray ionization (ESI) mass spectrometry (MS) study was related to the molecular mechanisms of the artemisinin-type agents antimalarial activity and revealed the noncovalent complexes formation between the drugs and their suggested molecular target – heme - *in vitro* [1]. In our following combined ESI MS and quantum chemical study we investigated the interactions of the artemisinin-type drugs and anti-inflammatory acetylsalicylic acid (aspirin, ASP) with membrane phospholipids [2]. The results of the combined investigation demonstrated a competition between the antimalarial agents and ASP for binding with the phospholipid molecules; the complexation between the antimalarial drugs and ASP was also found [2].

The current model study by ESI MS was devoted to examining the biologically significant interactions of the artemisinin-type drugs and molecules of ascorbic acid (ACA), which can be used in antimalarial therapy as supporting vitamin preparation or could be affiliated with the patient's food. Formation of stable noncovalent complexes of the artemisinin-type drugs (artemisinin, dihydroartemisinin, α -artemether and artesunate) with ascorbic acid molecules in a polar solvent methanol has been revealed by ESI MS probing of the binary model systems of the antimalarial drug-ascorbic acid with 1:1 molar ratio. Further, in the spectrum of the model system of ascorbic acid - dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC, membrane phospholipid) with 1:10 molar ratio the peak of cationized complexes $[ACA \cdot DPPC \cdot Na]^+$ with m/z 933.2, $I=9\%$, is recorded. Formation of the noncovalent complexes of artemisinin-type agents with DPPC in similar experimental conditions was confirmed earlier in [2]. Then, in the current investigation the triple systems containing the artemisinin-type agent, ACA and DPPC in the molar ratio 1:1:10 have been examined. The results revealed a competition between the antimalarial agents and ACA for binding with the DPPC molecules basing on the peaks of the complexes of artemisinin-type drugs:DPPC and ACA:DPPC registration in the mass spectra. The complexation between the antimalarial drugs and ACA was also found in the spectra of the triple systems. The observed phenomenon testifies to the possibility of modulation of the membranotropic activity and transmembrane penetration ability of artemisinin-type agents and ascorbic acid under their combined usage.

Authors acknowledge the Program of cooperation between Ukrainian and Hungarian Academies of Sciences for the financial support of visits of the scientists from B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the NAS of Ukraine to the Research Centre for Natural Sciences of the Hungarian Academy of Sciences, where ESI experiments were carried out.

1. Pashynska, V., Kosevich, M., Van den Heuvel, H. & Claeys, M. (2004) 'Characterization of noncovalent complexes of antimalarial agents of the artemisinin-type and Fe(III)-heme by electrospray mass spectrometry and collisional activation tandem mass spectrometry', *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 15, 1181-1190.
2. Pashynska, V., Stepanian, S., Gomory, A., Vekey, K. & Adamowicz, L. (2015) 'Competing intermolecular interactions of artemisinin-type agents and aspirin with membrane phospholipids: combined model mass spectrometry and quantum chemical study', *Chem. Phys.*, 455, 81-87.

The effect of melatonin different time administration on appearance beige adipocytes in white adipose tissue of rats with diet-induced obesity

Kalmukova O.O., Dzerzhinsky M. E.

Taras Shevchenko National University of Kyiv

Melatonin – hormone of pineal gland, which have benefits effects on immune, adipose and other tissues during metabolic disease [1, 2]. However, melatonin can induce appearance of beige adipocytes - potential target for obesity treatment [3]. An additional interesting issue is the varying sensitivity of the organism to melatonin over the course of the day, as manifested by the differences in the membrane and nuclear receptors expression in cells [4]. One of the topical issues in chronopharmacology is the choice of the effective time of drug administration to increase the useful effects and reduce the side effects [5]. Therefore, the aim of the study was to evaluate the morphology and functional status of browning white adipose tissue at different time of melatonin administration in term of high-calorie diet-induced obesity.

Male rats were divided to 8 groups: 1) Control (C) – received a standard chow (SC); 2) High caloric diet (HCD)-fed group; 3) SC-fed and melatonin treated group either 1 h after lights-on (M ZT01) or 4) 1 h before lights-off (M ZT11); 5) HCD + melatonin 1 h after lights-on (HCD ZT01) or 6) 1 h before lights-off (HCD ZT11); 7) Melatonin continuously with drinking water + HCD (HCD water) or + SC (M water) (8). Melatonin was administered daily by gavage for 7 wk (30 mg/kg). Inguinal white adipose tissue (iWAT) were removed for histological (hematoxylin-eosin) and macroscopic analyses. Morphometrical parameters, including browning area of iWAT, beige adipocyte area, lipid droplets area and their number per cell, were measured.

It was shown that upon melatonin received the relative area of browning zone in iWAT increase, even in rats with HCD (in compare with C). The beige adipocyte area after melatonin use was less in relation with HCD and C both. The lipid droplets area decrease and significantly differ in group HCD ZT01, HCD ZT11, HCD water; moreover the lowest value fixed in HCD water. Also the lipid droplets number in each cell grow under melatonin treatment during evening administration and with drinking water in compare HCD and C. It shows highest functional activity of beige adipocytes, that manifested in heat production and lipolysis (relative mass of WAT likewise diminished).

The obtained results suggest that the melatonin promote iWAT browning in rats with diet-induced obesity and also influence on morphological signs in white adipose tissue of normal rats. The difference is shown activation of beige adipocytes function in white adipose tissue when melatonin treatment was performed 1 h before lights-off (ZT11) or continuously via drinking water.

All experiments on animals were conducted in compliance with the requirements of current legislation and bioethics standards.

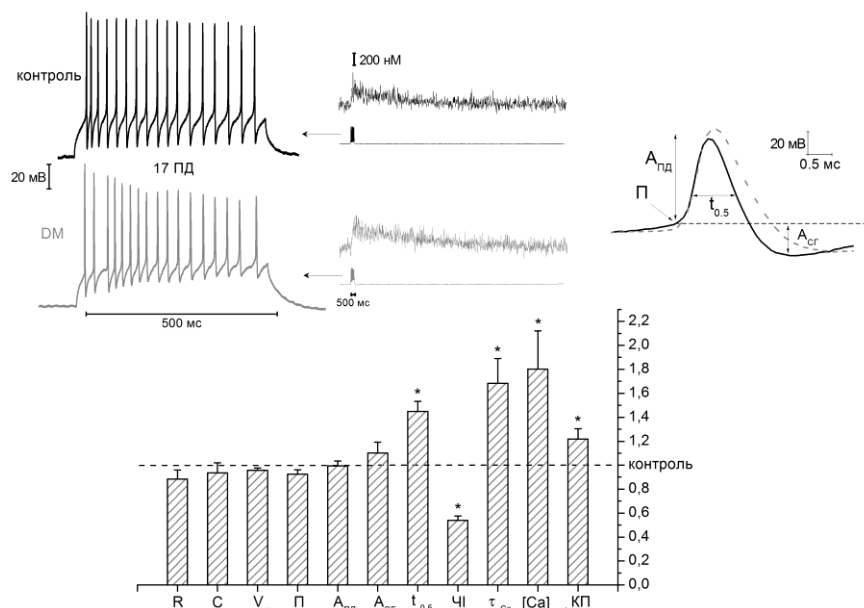
1. Fernández Vázquez G., Reiter R. J., Agil A. Melatonin increases brown adipose tissue mass and function in Zucker diabetic fatty rats: implications for obesity control //Journal of pineal research. – 2018. – Vol. 64. – №. 4. – P. e12472.
2. Xu P. et al. Melatonin prevents obesity through modulation of gut microbiota in mice //Journal of pineal research. – 2017. – Vol. 62. – №. 4. – P. e12399.
3. McMillan A. C., White M. D. Induction of thermogenesis in brown and beige adipose tissues: molecular markers, mild cold exposure and novel therapies //Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity. – 2015. – Vol 22. – №. 5. – P. 347-352.
4. Acuña-Castroviejo D. et al. Characterization of high-affinity melatonin binding sites in purified cell nuclei of rat liver //Journal of pineal research. – 1994. – Vol. 16. – №. 2. – P. 100-112.
5. Dyar K. A., Eckel-Mahan K. L. Circadian metabolomics in time and space //Frontiers in neuroscience. – 2017. – Vol. 11. – P. 369.

Кальцієві сигнали при тонічній імпульсації гангліозних клітин сітківки ока щурів зі стрептозототин-індукованим діабетом

Кузнецов К.І., Маслов В.Ю., Федулова С.А., Веселовський М.С.

Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця, kir.kuznet@gmail.com, masl@biph.kiev.ua, yahont.ruby@gmail.com, nsvesel@biph.kiev.ua

Поширеним патологічним станом при цукровому діабеті (DM) є діабетична ретинопатія, при якій відбуваються такі процеси як нейродегенерація, апоптоз, підсилення експресії глутаматних рецепторів та кальцій-зв'язуючих білків тощо. Оскільки саме гангліозні клітини сітківки (ГКС), нейрони, що здатні до тонічної високочастотної генерації потенціалів дії (ПД), є заключною ланкою при передачі імпульсації від ока в центральну нервову систему, то дослідження мембранних властивостей цих клітин є важливим для розуміння механізмів передачі зорової інформації у нормі та їх порушень при патології. У даній роботі представлено результати електрофізіологічного дослідження в конфігурації «ціла клітина» електричних властивостей окремих ГКС ока щурів зі стрептозототин-індукованим діабетом (STZ-DM). Спостерігали викликану тонічну імпульсацію ГКС та кальцієві сигнали, що зумовлені цією імпульсацією, в нормі та патології. Так, за умов STZ-DM, максимальна середня частота імпульсації (ЧІ на рисунку) ГКС достовірно зменшувалась майже вдвічі порівняно з контролем. При цьому тривалість (півширина) окремого ПД ($t_{0.5}$) у серії достовірно збільшувалась приблизно на 50%. Пасивні характеристики ГКС (опір R_m , ємність C_m , потенціал спокою V_m) та інші параметри окремого ПД (поріг П, амплітуда $A_{ПД}$, амплітуда слідової гіперполяризації A_{CG}) достовірно не змінювалися). Амплітуда відповідних кальцієвих сигналів також зростала, що пов'язано, насамперед, із збільшенням тривалості окремого ПД у серії – відповідний коефіцієнт пропорційності (КП) амплітуди кальцієвого сигналу до кількості ПД у серії збільшувався приблизно на 30% порівняно з контролем. Концентрація вільного кальцію в цитоплазмі ГКС у стані спокою ($[Ca]_{rest}$) за умов STZ-DM була збільшена майже удвічі. Стала часу спаду кальцієвих сигналів (τ_{Ca}) також достовірно відрізнялася від контролю. Отримані дані свідчать про значні функціональні негативні зміни у електричній активності та порушення кальцієвого гомеостазу ГКС за умов STZ-DM, механізми яких потребують подальших досліджень.



Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

Вплив меланіну на запальні процеси та процеси загоєння за умов лужного опіку стравоходу у щурів

Пасічник А. Л., Чорненька Н. М., Раєцька Я. Б., Савчук О.М.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, anastasiia.pasechnik96@gmail.com

Щороку в Україні опіки отримують понад 12 тисяч дітей, найбільш постраждала група – це діти віком від 1-го до 5-ти років. Хімічні опіки супроводжуються розвитком синдрому ендогенної інтоксикації та порушенням про/антиоксидантної системи. Аналіз сучасної літератури дозволяє припустити, що можливо перспективним засобом в нормалізації протеїназного дисбалансу, при опіку стравоходу можуть бути речовини природного походження на основі поліфенольних сполук. До цих речовин відноситься меланін, який є продуктом життєдіяльності дріжджеподібних грибів *Nadsoniella nigra* штаму Х-1. Тому метою було визначити вплив меланіну на запальні процеси та процеси загоєння за умов лужного опіку стравоходу у щурів. У досліджах використовували статевонезрілих (1-місячних) щурів вагою 90-110г (що відповідає 1-4-річному віку дітей), відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах. Тваринам моделювали лужний опік стравоходу (ЛОС) 20% розчином NaOH. Меланін вводили починаючи з 2-ї доби експерименту в дозі 1 мг/кг протягом 14 днів. Біологічний матеріал для дослідження відбирали на 7, 15 та 21 доби, які відповідають стадіям опікової хвороби [Фисталь, 2005]. Рівень IL-1 β та IgG у сироватці крові піддослідних тварин а також рівень ММП-9 та фактора росту фібробластів у тканинах стравоходу визначали методом імуноферментного аналізу з використанням наборів реактивів Biotrak ELISA System фірми «Healthcare» згідно з інструкціями. Рівень експресії мРНК генів (Ptgs2 та Tgfb1) в сироватці крові визначали методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням комп'ютерної програми Excel та двофакторного дисперсійного аналізу (two-way ANOVA) із пост тестом Бонферонні. Таким чином, за умов ЛОС 2 відбувався активний запальний процес та порушувались процеси загоєння, що було підтверджено показниками (IL-1 β , IgG, ММП-9, фактор росту фібробластів, Ptgs2 та Tgfb1). При умові застосування меланіну відбувалася нормалізація даних показників та наближення їх значень до рівня контролю. Отже, можна припустити, що меланін є перспективною речовиною для зниження запального процесу, а також пришвидшення загоєння та зниження вірогідності після опікових ускладнень.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

РОЗДІЛ 2. МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА

DNA interactions with lysozyme amyloid fibrils monitored by the novel phosphonium dye TDV1

Tarabara U.¹, Ryzhova O.¹, Vus K.¹, Trusova V.¹, Gorbenko G.¹, Deligeorgiev T.²,

¹Department of Nuclear and Medical Physics, V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv 61077, Ukraine, uliana.tarabara@gmail.com

²Department of Pharmaceutical and Applied Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Sofia University St. Kliment Ohridski, 1 blv. J. Bourchier, Sofia, 1164, Bulgaria

Among a variety of fluorescent probes currently used in biomedical studies an important place belongs to phosphonium cyanine dyes that proved to be suitable for selective staining of mitochondria, sensing the oxygen and hydrogen peroxide level, photodynamic therapy, etc. Because of their dual hydrophobic and cationic nature, these dyes display high affinity for nucleic acids, especially for DNA duplex. In view of this, phosphonium cyanines can serve as effective fluorescent reporters while exploring the DNA interactions with other molecules. One type of these interactions, viz. the complexation between DNA and pathologically aggregated proteins, amyloid fibrils, currently attracts particular interest because of amyloid involvement in the molecular etiology of a wide variety of severe diseases.

In view of this, the present study was undertaken to assess the sensitivity of the novel phosphonium dye TDV1 to DNA - amyloid protein interactions. For this purpose, the fluorescence spectra of TDV1 were recorded in buffer solution and in the presence of either double stranded DNA (dsDNA) or fibrillar aggregates of lysozyme (LzF) and in the combined dsDNA/LzF systems. TDV1 appeared to be highly emissive in buffer solution with maximum at ~604 nm. The DNA addition resulted in the significant increase of fluorescence intensity coupled with a red shift of emission maximum up to 15 nm and the appearance of a second low-fluorescence maximum at 705 nm. The observed low-intensity maximum can be attributed to the dye head-to-tail dimers formed presumably in the DNA minor groove. The marked changes in TDV1 fluorescence spectra were observed also upon the dye binding to fibrillar lysozyme. At the low protein concentrations these changes include: i) the decrease in fluorescence intensity at 604 nm; ii) the appearance of a second high-intensity maximum at 703 nm. The band at 604 is a characteristic of the monomeric dye form, whereas a red-shifted band occurring in the presence of LzF can be assigned to J-type transitions of TDV1 aggregates bound to lysozyme fibrils. Further elevation of LzF concentration resulted in the increase of the overall fluorescence intensity, with the contribution of J-dimers to the total spectrum dominating over those of the higher-order dye self-associates. The above findings indicate that phosphonium dye under study interacts with lysozyme fibrils mainly in the dimeric form. The TDV1 dimer species seem to occupy the non-specific protein sites, lying perpendicular to the fibril axis. The addition of fibrillar lysozyme to TDV1-DNA mixture led to the enhancement of fluorescence intensity of the monomeric dye form coupled with a blue shift of emission maximum up to 6 nm and increase of fluorescence intensity at 703 nm. Notably, these effects turned out to be highly sensitive to the ionic strength changes. The addition of 150 mM sodium chloride to the TDV1/DNA/LzF mixtures resulted in ~ 6-fold decrease in the monomer fluorescence intensity and ~ 2-fold fluorescence reduction of the dimeric dye form at 703 nm, pointing to a significant role of electrostatics in the formation TDV1-DNA complexes.

To summarize, the results obtained suggest that the novel phosphonium dye TDV1 may prove of usefulness in elucidating the mechanisms of DNA interactions with proteins, particularly, with pathogenic protein aggregates associated with the amyloid diseases.

This work was partly supported by the grants No 0116U000937 and No 0117U004966 for Young Scientists from the Ministry of Education and Science of Ukraine.

Біологічні наслідки взаємодії барвника метиленового синього з амінокислотою цистеїном

Косевич М.В.^{1,2}, Боряк О.А.¹, Зобніна В.Г.¹, Шелковський В.С.¹, Плохотніченко О.М.¹

¹ Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна Національної академії наук України, пр. Науки 47, м. Харків, 61103, Україна, mvkosevich@ilt.kharkov.ua

² Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, пл. Свободи 4, Харків, 61022, Україна

Одним з практично важливих результатів молекулярно-біофізичних досліджень міжмолекулярних взаємодій біологічно активних сполук з біомолекулами є встановлення молекулярних механізмів дії лікарських препаратів, які створюються на їх основі. Серед захворювань, пов'язаних з порушеннями функціонування певних біомолекул, особливо руйнівними є нейрондегенеративні. Для запобігання їм наразі ведуться пошуки сполук, здатних загальмовувати вікові зміни у структурі білків нервових клітин. Існує гіпотеза, згідно якої для запобігання патологічній агрегації тау-білків (як одного з проявів хвороби Альцгеймера) необхідно блокувати SH-групи бокових радикалів амінокислоти цистеїну на активних ділянках цих білків [1].

Метою даної роботи було встановлення молекулярних механізмів дії редокс-активного катіонного барвника метиленового синього (МС) як перспективного препарату проти хвороби Альцгеймера [2] з його потенційною мішенню – амінокислотою цистеїном (Cys) на модельній системі *in vitro*. Для встановлення продуктів редокс-реакцій у цій системі було застосовано метод вторинно-емісійної мас-спектрометрії [3].

При змішуванні водних розчинів Cys та МС (Cys:МС від 20:3 до 3:1) спостерігалася деколоризація вихідного синього розчину, яка кількісно відбивалася у UV-VIS спектрах системи та свідчила про відновлення МС унаслідок окиснення Cys. За допомогою мас-спектрометрії було ідентифіковано єдиний продукт прямого окислення цистеїну метиленовим синім – цистин (Cystine), що утворюється шляхом формування дисульфідного містка – S-S- між двома молекулами цистеїну. А саме, у той час як мас-спектри чистого Cys містили лише сигнал протонованої амінокислоти $\text{Cys}\cdot\text{H}^+$, m/z 122, у мас-спектрах її суміші з МС з'являвся новий пік з m/z 241, який за масою відповідає протонованому ковалентному димеру $(2\text{Cys} - 2\text{H})\cdot\text{H}^+$. Продукт $(2\text{Cys} - 2\text{H})\cdot\text{H}^+$ було зареєстровано також у контрольному експерименті з відомим окислювальним агентом – перекисом водню. Кисневмісні продукти окислення цистеїну не виявлено. Показано, що відновлення метиленового синього у ході реакції переводить його у лейко-форму, котра також розглядається як агент в терапії нейродегенеративних захворювань.

Ймовірно, що подібна до виявленої *in vitro* модифікація залишків цистеїну в складі Тау-білків у організмі змінює їх структуру, що може запобігати їх наступній агрегації. Таким чином, експериментально доведено можливість реалізації такого механізму терапевтичної дії МС. Ця інформація має практичне значення для подальшої розробки препаратів, які можуть запобігати агрегації білків у нейрофібрилярні клубки.

1. Akoury, E., Pickhardt, M., Gajda, M. et al. (2013) Mechanistic basis of phenothiazine-driven inhibition of Tau aggregation. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52, 3511-3515.
2. Crowe, A., James, M. J., Lee, V. M. et al. (2013) Aminothienopyridazines and methylene blue affect Tau fibrillization via cysteine oxidation. *J. Biol. Chem.*, 288, 11024-11037.
3. Shelkovsky, V. S., Kosevich, M. V., Boryak, O. A., et al. (2014) Monomer/dimer dependent modulation of reduction of the cationic dye methylene blue in negatively charged nanolayers as revealed by mass spectrometry. *RSC Advances*, 4, 60260–60269.

Membranotropic properties of different methotrexate – betulonic acid conjugates

Budianska L.V.^{1*}, Vashchenko O.V.¹, Kasian N.A.¹, Semenenko A.N.², Lipson V.V.², Zozulya S.A.³, Zhuravel E.V.³, Yurchenko V.V.³ and Lisetski L.N.¹

¹Institute for Scintillation Materials of NASU, 60 Nauky Ave., 61172 Kharkov, l.budjanskaja92@gmail.com

²State Scientific Institution “Institute for Single Crystals” of NASU, 60 Nauky Ave., 61172 Kharkov

³“Enamin Ltd”, 67 Chervonotkatska st., 02660 Kiev

Metotrexate derivates are under focused attention in recent years because reduction of metotrexate toxicity is necessary for purposes of anti-cancer therapy. Three metotrexate – betulonic acid conjugates, SA-1, SA-9, and SA-188, were synthesized and explored both in model lipid membranes and in Caco-2 cells.

Membranotropic properties of the conjugates were assessed on the basis of their cell permeability (P_{app}) and their ability to affect thermodynamic properties of model lipid membranes. Two types of model lipid membranes were used: standard monolipid membrane based on dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) and membrane which mimics lipid composition of enterocytes, phosphatidylcholine-phosphatidylethanolamine-cholesterol (PC-PE-Chol). By means of differential scanning calorimetry, sets of phase transition parameters were obtained for each membrane system, which were used for characterization of membranotropic action. For various conjugates, essential difference in membranotropic action in DPPC membrane was observed, as well as distinctions in P_{app} . SA-188 possessed the most pronounced membranotropic effect; in particular, it essentially decreased the membrane melting temperature. It was also established that the conjugates preferentially bind with cholesterol-enriched phase of PC-PE-Chol membrane.

Besides, methotrexate and betulonic acid, the conjugates constituents, were separately examined in DPPC membrane. The former was found to have no significant influence on membrane properties. The latter, in contrast, caused lowering and broadening of the DSC peak in a cholesterol-like manner. So it seems believable that it is betulonic acid which provides the membranotropic effect of the conjugates and its preliminary affinity to cholesterol-enriched phase.

In order to elucidate the reasons of discrimination in membranotropic properties of various conjugates, their molecular parameters were determined using open electronic resource vcclab.org. Shift of membrane melting temperature (ΔT_m) was chosen as a relevant membranotropic parameter due to its high sensitivity and reproducibility. High correlation was established between ΔT_m and a number of molecular parameters, such as lipophilicity ($\log P$), water solubility ($\log S$), dipole moment (μ) and anisometry coefficient (k). So, the greatest membranotropic effect of SA-188 may result from the largest $\log P$, μ , k and the smallest $\log S$. Interestingly, that high direct linear correlation was established between P_{app} and k , and high invert linear correlation was established between P_{app} and $\log P$.

These findings seem to be useful for optimization of the drug properties.

Дослідження впливу іонів кальцію на десенситизацію TRPV1 каналів**Петрушенко М.О.¹, Петрушенко О.А.¹, Лук'янець О.О.¹**¹Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України mary_petr@ukr.net, hap2@ukr.net, elena@biph.kiev.ua

Рецептор-керовані катіонні канали транз'єнтного рецепторного потенціалу ванілоїдного типу 1 (TRPV1), пов'язані з трансдукцією сигнальних систем високотемпературної, низького рН, больової чутливості та лежать в основі гіперчутливості при невропатичному болю. Молекулярна регуляція активності TRPV1 каналів поки не повністю зрозуміла. Тому ми досліджували вплив двовалентних катіонів на процес втрати чутливості (десенситизацію) TRPV1 каналів.

Відомо, що під впливом капсаїцину в мембрані DRG нейронів збільшується проникність TRPV1 каналів переважно для двовалентних катіонів (1 - 3). Надходження Ca^{2+} через TRPV1 канали в клітину викликає їх десенситизацію (1). Але в літературі немає чіткої відповіді на питання, пов'язані з можливим механізмом десенситизації TRPV1 каналів: десенситизація капсаїцинових каналів розвивається під впливом підвищення внутрішньоклітинного рівня іонізованого Ca^{2+} , проходження Ca^{2+} крізь канали чи зв'язування катіонів з ними або через опосередковані кальмодуліном події (4).

Робота була виконана на одноденній культурі нейронів DRG новонароджених шурів (5). Рівень внутрішньоклітинного кальцію вимірювався з використанням флуоресцентного індикатора Ca^{2+} Fura 2AM, зниження рівня Ca^{2+} здійснювали за допомогою селективного хелатора Ca^{2+} іонів ВАРТА. Нейрони навантажували Fura-2AM у розчині, який містив іони Ca^{2+} і Mg^{2+} для стабілізації мембрани клітини і забезпечення флуоресценції барвника. Розчин у експериментальній камері не містив двовалентних катіонів. У той же час, розчин для аплікації деполяризуючої концентрації KCl і капсаїцину містив 1мМ Ca^{2+} і 1 мМ Mg^{2+} .

На початку досліду до мембрани нейрону додавали 80 мМ KCl для завантаження внутрішньоклітинних депо і після цього у камеру з досліджуваним нейроном на протязі 5 хв вводили розчин, в якому не було двовалентних катіонів, але був хелатор Ca^{2+} ВАРТА (3 мкМ). Після зниження внутрішньоклітинного рівня Ca^{2+} послідовно аплікували капсаїцин (0,3 мкМ) і спостерігали за змінами амплітуди кальцієвих транз'єнтів. У таких умовах частина нейронів показала наявність десенситизації по типу тахіфілаксії.

Ці дані дозволяють припустити, що відсутність іонізованого Ca^{2+} в клітині не заважає розвитку тахіфілаксії в умовах надходження іонів Ca^{2+} через TRPV1 канали.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

1. Koplak PA, Rosenberg RL and Oxford GS. The role of calcium in the desensitization of capsaicin responses in rat dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci* 17: 3525-3537, 1997.
2. Yang F, Ma L, Cao X, Wang K and Zheng J. Divalent cations activate TRPV1 through promoting conformational change of the extracellular region. *J Gen Physiol* 143: 91-103, 2014.
3. Petrushenko M.O., Petrushenko E.A., Lukyanetz E.A. Properties of vanilloid receptor type 1. *Fiziol. Zh.*; 64(1): 91-102, 2018
4. Rosenbaum T, Gordon-Shaag A, Munari M, Gordon SE. Ca^{2+} /calmodulin modulates TRPV1 activation by capsaicin. *J Gen Physiol*. Jan;123(1):53-62, 2004.
5. Dragan A.V., Petrushenko O.A., Burlak O.P., Lukyanetz E.A. Effect of TRPA1 receptor activation on TRPV1 channel desensitization in rat dorsal ganglion neurons. *Fiziol. Zh.* 62(1): 16-24, 2016.

Спектри люмінесценції основ нуклеїнових кислот у різних фазових станах під дією електронного пучка

Суховія М.І., Бірдус С.Е., Шафраньош М.І., Митропольський І.Є., Кузьма В.В., Свида Ю.Ю., Шафраньош І.І.

Ужгородський національний університет, misshafr@gmail.com

Нуклеїнові кислоти ДНК і РНК мають не лише виняткове біологічне значення, але і те, що їхні компоненти стають перспективним біоматеріалом для багатьох нових технологій. Тому є актуальною інформація про фізичну структуру біомолекул і її зміни під впливом факторів довкілля. Як відомо, високоенергетичне випромінювання різних видів у речовині утворює у значній кількості вторинні електрони енергією від одиниць до сотень еВ, які викликають основні деструктивні зміни на молекулярному рівні біооб'єктів.

Об'єктами дослідження були молекулярні компоненти нуклеїнових кислот – піримідинові азотисті основи: цитозин і урацил. Вимірювання спектрів люмінесценції здійснювали за допомогою високовакуумного електрон-фотонного спектрометра. Джерелом пучка електронів була п'ятиелектродна гармата з вольфрамовим катодом. Біомолекули досліджувались у різних фазових станах: газоподібному (у двох варіантах – пучки і комірка), твердому (на поверхні кераміки). Також аналізувався спектр свічення електричного розряду в парах цитозину.

У роботі отримано спектри люмінесценції молекул нуклеотидних основ і продуктів їх дисоціативного збудження в області від 200 до 600 нм. Зокрема, з використанням методу газової комірки під дією електронів 100 еВ для урацилу зареєстровано понад 20 спектральних смуг і ліній. Досліджено енергетичні залежності перерізів збудження (функції збудження) спектральних молекулярних смуг у максимумі та проаналізовано їхні особливості: енергетичні пороги, форму функцій, положення максимумів. Показано наявність інтеркомбінаційних переходів з утворенням збуджених метастабільних станів молекул. Тобто виявлено пряме збудження електронним ударом триплетних метастабільних станів молекул нуклеотидних основ. На основі аналізу функцій збудження та квантово-механічних розрахунків здійснено ідентифікацію інтенсивних смуг в емісійних спектрах молекул основ. Крім цього, показано, що найбільш інтенсивні смуги із максимумами при 275 – 290 нм зумовлені радіаційним розпадом першого збудженого електронно-коливного стану молекулярного іона в його основний стан. Більша частина спектральних артефактів пов'язана із процесами дисоціативного збудження.

Важливо, що, на відміну від газового стану, молекули основ на керамічній підложці залишаються більш стійкими до впливу електронів. Радіаційний розпад нижнього синглетного стану в основний стан формує смугу флуоресценції з максимумом при $\lambda = 335$ нм, яка є домінуючою в спектрі молекул урацилу, впроваджених у твердотільну матрицю. Молекулярна смуга з максимумом при $\lambda = 435$ нм є смугою фосфоресценції і обумовлена радіаційним переходом $T_1 \rightarrow S_0$. Фрагментація молекул урацилу, іммобілізованих у тверду матрицю, під дією електронного бомбардування ($E = 600-800$ еВ) незначна. Отже, адсорбція біомолекул у пористі поверхні твердого тіла може захистити їх від деградації в навколишньому середовищі.

Nanoparticles influence the amyloid fibril formation

Dovbeshko G.I.¹, Olenchuk M.V.¹, Gnatyuk O.P.¹, Polovyi I.O.¹, Karakhim S.O.²

¹Institute of Physics of NASU, Nauky Avenue, 46, Kyiv, 03028, Ukraine, *ipoliovy@gmail.com*

²Palladin Institute of Biochemistry of NASU, Leontovycha St. 9, Kyiv, 01601, Ukraine

Amyloid fibrils are the protein aggregates that have specific secondary structure. They are associated with the numerous pathological processes, including Alzheimer and Parkinson diseases, prion propagation, cancer metastasis, etc. Carbon nanotubes and WS₂ are able to interact with such biological molecules as DNA, phospholipids, proteins. In our study, we showed the difference between the lysozyme amyloid fibril structures formation due to the interaction with either carbon nanotubes or WS₂ nanoparticles.

Samples were prepared from hen egg-white lysozyme protein (HEWL, Fluka), single-walled (SWCNT, Sigma-Aldrich) and multi-walled (MWCNT, ООО ТМ «Spetsmash», Kyiv, Ukraine) carbon nanotubes and the 2D-WS₂. We used the method of Liquid exfoliation for the nanoparticles synthesis in the Institute of Physical Chemistry. The size of particles changed from tens to hundred nm. The techniques we used were IR-Fourier Absorption Spectroscopy and confocal microscopy.

The comparison of lysozyme interaction with carbon nanotubes and WS₂ nanoparticles by vibrational spectroscopy along with conformational analysis of the formed structures was carried out. We showed that carbon nanotubes can affect the structure of lysozyme even at room temperature and normal pH values, as evidenced by conformational changes in lysozyme due to interaction with carbon nanotubes. Complexes which are formed as a result of such interaction have characteristic features of amyloid fibrillar structures: after the interaction between lysozyme and CNT, an increase in the contribution of antiparallel β -conformation in the structure of lysozyme is observed, and the contribution of the α -helix conformation is reduced, which are characteristic features in the formation of amyloid structures [1-2]. It reveals one of possible mechanisms of carbon nanotubes cytotoxicity. However, unlike CNT, WS₂ partially prevent the formation of amyloid fibrils especially under low pH (2.5). In general, we observed that under high pH values amyloid fibrils are formed more easily. It may occur due to the close proximity of isoelectric point (11.3). The confocal images of lysozyme samples confirm the decomposition data.

The method of vibrational spectroscopy has shown that both CNT and WS₂ can influence the structure of lysozyme, as it is shown by the conformational analysis of the absorption band Amide I. We have shown that (1) amyloid fibrils can be formed without the use of high temperatures at different pH values with the interaction of lysozyme with carbon nanotubes; (2) the formation of amyloid fibrils are prevented with WS₂ nanoparticles.

This work has been supported by the HORIZON 2020 project “Asymmetry of biological membrane: theoretical, experimental and applied aspects” (690853-assymcurv-H2020-MSCA-RISE-2015/ H2020-MSCA-RISE-2015), NATO 98 5291, STCU 6175, “Development of 2D materials and “smart” sensors for medical and biological purposes” 11/1 2018.

1. Goormaghtigh E. Determination of soluble and membrane protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy / Goormaghtigh E., Cabiaux V., Ruyschaert J.-M. // *Subcell. Biochem.* – 1994. – Vol. 23. – P. 405–450

2. Caroline P'erez & Kai Griebenow. Fourier-transform infrared spectroscopic investigation of the thermal denaturation of hen egg-white lysozyme dissolved in aqueous buffer and glycerol. *Biotechnology Letters* Vol. 22: —p.1899–1905, 2000

Мембранні та внутрішньоклітинні механізми пуринергічної кальцієвої сигналізації в гладеньком'язових клітинах судин.**Суханова Х.Ю.**Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ, м. Київ, *skhrist@biph.kiev.ua*

Робота присвячена виявленню мембранних та внутрішньоклітинних механізмів пуринергічної кальцієвої сигналізації, які лежать в основі скоротливої активності гладеньком'язових клітин (ГМК) дрібних артерій і регуляції системного артеріального тиску. За допомогою метода лазерної конфокальної мікроскопії та інгібіторів L-VGCCs, сарко/ендолазматичної кальцієвої АТФ-ази (SERCA), інозитолтрифосфатних рецепторів (IP_3Rs), ріанодинових рецепторів ($RyRs$), фосфоліпази С виявлено зміни $[Ca^{2+}]_i$ та участь вищезазначених компонентів у збільшенні $[Ca^{2+}]_i$ при $\alpha\beta$ -мєАТФ-викликаній активації P2X рецепторів. Аналіз результатів показав, що вхід Ca^{2+} в клітину через L-VGCCs підсилюється за рахунок кальцій індукованого вивільнення кальцію (CICR) набагато сильніше, ніж вхід Ca^{2+} через P2X рецептори, не зважаючи, що потоки Ca^{2+} в клітину, які забезпечувались цими двома механізмами, значно не відрізнялись. Показано, що при активації P2X рецепторів, окрім входу Ca^{2+} через самі P2X рецептори, артеріальні ГМК залучають більш ефективний механізм Ca^{2+} сигналізації, суттєвим компонентом якого є вивільнення Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулуму (СР), яке започатковується входом Ca^{2+} через L-VGCCs. Виявлені особливості вивільнення Ca^{2+} із СР, які полягають в тому, що обидва типи рецепторів - $RyRs$ і IP_3Rs беруть участь у пуринергічній регуляції кровообігу і ефект блокування IP_3Rs був сильнішим ніж ефект блокування $RyRs$ та зменшувався при блокуванні L-VGCCs. Останнє свідчить, що активація L-VGCCs пов'язана з IP_3Rs -опосередкованим вивільненням Ca^{2+} із СР. Функціональний зв'язок між VGCCs та IP_3Rs може бути пов'язаний із експресією IP_3Rs в під мембранних елементах СР. Це припущення було підтверджено імунозабарвленням $RyRs$ та IP_3Rs : $RyRs$ знаходяться переважно в центральних та навколо ядерних елементах СР, а IP_3Rs локалізовані безпосередньо під мембраною. Ця структурна особливість робить IP_3Rs більш доступними для Ca^{2+} , який надходить у клітину через L-VGCCs. Таким чином, активація P2XRs запускає IP_3R -опосередкований викид Ca^{2+} з СР, який полегшується надходженням Ca^{2+} через L-VGCCs. Результати роботи можуть слугувати основою розробки нових стратегій для терапевтичної корекції пуринергічного контролю судинного тонуру.

Всі експерименти на тваринах проводились із дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

N-terminal domains of neurocalcin δ and hippocalcin underlies their distinct signalling

Dovgan A.V.,¹ Kononenko N.I.,¹ Viviano J.,² Dromaretsky AV.,¹ Belous F., Marimonchik A.³, Satretdinova R.³, Zhang J.², Venkataraman V.², Belan P.V.¹

¹Department of Molecular Biophysics, Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev, Ukraine;

²Department of Cell Biology, Graduate School of Biomedical Sciences,

Rowan University School of Osteopathic Medicine, Stratford, NJ 08084, USA;

³Kiev Academy Institute, Kiev, Ukraine.

Similar neuronal Ca^{2+} sensor (NCS) proteins, Neurocalcin δ (NCALD) and Hippocalcin (HPCA), control many neuronal functions via their differential Ca^{2+} -dependent translocation from the cytosol to the plasma membrane. We have previously reported a substantial difference in their signaling in spite of minor distinctions in their AA sequences. Here, we have studied whether cytosolic NCALD dimerization or protein-specific insertion into the plasma membrane are responsible for the observed difference. For that, we developed a set of NCALD and HPCA mutants and chimeras, tagged them by fluorescent proteins and co-expressed paired wise in cultured rat hippocampal neurons. Proteins' signaling was assayed by their translocation to the plasma membrane induced by fast $[\text{Ca}^{2+}]_i$ transients. We found that disruption of NCALD dimerization in the cytosol by a proper triple mutation did not affect Ca^{2+} -dependency and decay of its translocation. Further analysis revealed that the cytosolic dimerization did not occurs in living cells due to fast insertion of Ca^{2+} -bound form of NCALD into the plasma membrane that prevented the cytosolic dimerization. We have also found that structural distinctions between NCALD and HPCA in N-terminal domain appear to contribute to a difference in stabilization of Ca^{2+} -bound proteins in the plasma membrane. We conclude that the distinctions in N-terminal AA sequences between NCALD and HPCA rather than the cytosolic dimerization of NCALD are responsible for differential signaling of these proteins.

Всі експерименти на твариних проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

DNA time-dependent conformation rearrangements in the complex with endonuclease I-TevI: molecular dynamics simulation

Zhytnikova M.Yu.¹, Shestopalova A.V.^{1,2}

¹O. Ya. Usikov Institute for Radiophysics and Electronics, NAS of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²Department of Molecular and Medical Biophysics, V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine. allusio@gmail.com, avshestopalova1@gmail.com

Endonuclease I-TevI [1] is a well characterized site-specific endonuclease. It is composed of two functional domains, consisting of catalytic and DNA-binding domains. The DNA-binding domain is wraps around the DNA minor groove with a limited number of base-specific contacts. These contacts are needed for accurately positioning of the nuclease domain on the substrate.

The molecular dynamics simulation is employed to study the time-dependent conformation of sugar-phosphate DNA backbone in complex with endonuclease I-TevI (namely γ angle transitions from classical *gauche+* to alternative *gauche-* and *trans* conformations). Recently we have shown that γ angle transitions play an important role in the mechanisms of indirect protein–nucleic acid recognition through changes in the DNA properties [2].

The initial structure of protein–DNA complex was based on coordinates of the DNA-binding domain of intron endonuclease I-TevI with operator site (PDB ID: 1T2T). The molecular dynamics simulation was performed with the NAMD suite of programs [3] using CHARMM36 [4] all-atom force field. The initial structure was placed in a cubic periodic box filled with TIP3 water molecules. The minimum distance was about 12 Å from the solute unit to the edge of the box. To achieve electroneutrality, 41 Cl[−] and 41 Na⁺ ions were added to the system. The simulation was performed according to the standard protocol.

The analysis of molecular dynamic trajectories has shown that the DNA undergoes conformational transition of γ angle during the complex formation. The simulated results indicate that the γ angle more frequently switch in *gauche-* alternative state (in 2.7 times), but alternative *trans* state is more stable (life time in 5 times greater than for *gauche-* angle γ state).

The conformational analysis of DNA indicates that the G/C base pairs show more remarkable structural deformability than A/T base pairs. The angle γ transition for G/C pairs occurs in 2.8 times frequently than A/T ones. Moreover, the summarized life time of switched γ angle conformations for G/C base pairs is in 20 times greater.

The most long-lived γ angle alternative states are observed for the nucleotides contacted with elongated subdomain of I-TevI (residues 168-203) the most adaptable region of the protein. It should be noted that this particular subdomain forms the specific hydrogen bonds with DNA.

Thus, the conformational rearrangements of DNA are probably caused by interaction with the endonuclease I-TevI and in turn facilitate the implementation of the indirect readout.

The simulations were done using the facilities of GRID-cluster of O.Ya. Usikov Institute for Radiophysics and Electronics of NAS of Ukraine. The work was partly supported by the SCST Programme of Implementation and Usage of GRID technologies for 2018.

1. Van Roey, P., Waddling, C.A., Fox, K.M., Belfort & M., Derbyshire, V. (2001) Intertwined structure of the DNA-binding domain of intron endonuclease I-TevI with its substrate. *EMBO Journal*, 20, 3631–3637.

2. Zhytnikova, M.Yu. & Shestopalova, A.V. (2017) DNA minor groove electrostatic potential: influence of sequence-specific transitions of the torsion angle gamma and deoxyribose conformations. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 32(10), 1670-1685.

3. Phillips, J.C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skeel, R.D., Kale, L. & Schulten, K. (2005) Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry*, 26, 1781–1802.

4. Huang, J. & MacKerell, A.D. (2013) CHARMM36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to NMR data. *Journal of Computational Chemistry*, 34, 2135–2145.

Дія нового активатора флокаліну на серцево-специфічну комбінацію K_{ATP} -каналів порівняно з його похідним – пінацидилем

Штефан Н.Л.^{1,2}, Верещак Т.В.¹, Шуба Я.М.¹, Болдирєв О.І.¹

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

² Національний університет «Києво-Могилянська Академія», Київ, Україна

Активатори K_{ATP} -каналів використовуються як кардіопротектори у випадку ішемії. Активація K_{ATP} -каналів приводить до гіперполяризації та зменшення збудливості. Таким чином, вони захищають кардіоміоцити від пошкоджень. Флокалін – це новий активатор K_{ATP} -каналів, що має майже однакову EC_{50} (8 mM l^{-1}) порівняно з його попередником – пінацидилем (10 mM l^{-1}) [1]. Присутність фторгрупи робить флокалін менш токсичним і більш стабільним. Відомо, що флокалін має сильну кардіопротективну дію на цілому серці при пошкодженнях під час проведення ішемії-реперфузії. Проте його дія щодо інших тканин залишається невідомою. Тому, метою нашого дослідження є визначення чи є флокалін специфічним для серцевої комбінації K_{ATP} -каналів. Дане дослідження має відповісти на питання чи буде флокалін потенційно мати побічні дії.

K_{ATP} -канали складаються з двох типів субодиниць (K_{ir} та SUR). Вони експресуються в різних комбінаціях у різних тканинах, таких як підшлункова залоза, серце, гладенькі м'язи кровоносних судин та вісцеральних органів. Використовуючи метод ЗТ-ПЛР ми визначили субодиничний склад у різних тканинах: у серцевій тканині експресується мРНК $K_{ir}6.2$ та $SUR2A$, а також $SUR2B$ (що не було показано раніше); у тканині гладенького м'язу сечового міхура – $K_{ir}6.1$ та $SUR2B$; а також у підшлунковій залозі – $K_{ir}6.2$ і $SUR1$. Ці дані були використані для виконання гетерологічної експресії у клітинах лінії НЕК-293. Ми трансфекували клітини НЕК-293 плазмідними векторами, які містять кДНК послідовності, кодуєчі білки субодиниць K_{ATP} -каналів, відповідних певним тканинам. Після цього ми вимірювали струми через експресовані канали, використовуючи метод петч-клемп. Для визначення специфічності дії флокаліну будуть порівнюватись струми різних тканинно-специфічних комбінацій.

Ми виміряли струми, активовані прикладанням флокаліну на серцево-специфічній комбінації K_{ATP} -каналів, експресованій в клітинах НЕК-293. Дані струми мали подібні електрофізіологічні характеристики до таких, що активувались прикладанням пінацидилу. Але ми виявили, що струм, активований 20 mM розчином флокаліну має нижчу амплітуду порівняно зі струмом після прикладання 20 mM пінацидилу. Обидва типи струмів блокувались розчином глібенкламиду – блокатор K_{ATP} -каналів (10 mM).

Таким чином, ми припускаємо, що флокалін можливо має меншу ефективність ніж пінацидил. Необхідно проводити подальші експерименти із застосуванням різних концентрацій флокаліну для з'ясування його дозозалежності, а також дослідити дію флокаліну на інші гетерологічно експресовані тканино-специфічні комбінації K_{ATP} -каналів.

1. Voitychuk, O.I., Strutynskyi, R. B., Yagupolskii, L. M., Tinker, A., Moibenko, O.O. & Shuba, Y.M. (2011) Sarcolemmal cardiac K(ATP) channels as a target for the cardioprotective effects of the fluorine-containing pinacidil analogue, flocalin. *Br. J. Pharmacol.*, vol. 162, no. 3, 701-11.

Дослідження структурної топографії одотриптофанової форми тирозил-тРНК синтетази *B.taurus* методами флуоресцентної спектроскопії

Цуварев О.Ю.^{1,2}, Заєць В.М.¹, Блащак І.О.¹, Коломієць Л.А.², Корнелюк О.І.²

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, Україна,

e-mail: a.tsuvariev@gmail.com

Тирозил-тРНК синтетаза (TyrRS) є одним з ключових ферментів, задіяних в процесі біосинтезу білків. Тирозил-тРНК синтетаза *Bos taurus* складається з двох структурних одиниць, N-кінцевого каталітичного (міні TyrRS) та C-кінцевого цитокін-подібного модулів. В повнорозмірній TyrRS N-кінцевому модулю притаманна повна каталітична функція аміноацилювання відповідної амінокислоти з тРНК, тоді як C-модуль корегує та стабілізує розміщення тРНК в активному центрі фермента [1,2].

Метою даної роботи є дослідження структурної топографії поверхні мутантної одотриптофанової форми міні TyrRS, яка містить єдиний залишок триптофану W40 в активному центрі, за допомогою гасників флуоресценції акриламід та Cs⁺ і встановлення ефективності та характеру гасіння флуоресценції.

Мутантна форма міні TyrRS була отримана методом сайт-спрямованого мутагенезу з заміною кодонів триптофану на аланін. Експресію рекомбінантного N-кінцевого каталітичного модуля TyrRS проводили в культурі *Escherichia coli* BL21(DE3)pLysE. Очистку рекомбінантного протеїну здійснювали методом метал-хелатуючої хроматографії на колонці з Ni-NTA агарозою. Флуоресцентні вимірювання було проведено за допомогою спектрофлуориметра Hitachi M850 (Японія) на довжині хвилі збудження та емісії 295 нм і 330 нм, відповідно. Для вивчення структурної топографії була використана модель просторової структури міні TyrRS [3]. Візуалізацію молекулярної поверхні було зроблено за допомогою програмних пакетів PyMol та Chimera.

Отримані результати по гасінню флуоресценції мутантної форми міні-TyrRS свідчать про те, що триптофановий залишок W40 доступний для обох гасників, що також підтверджується даними комп'ютерного аналізу. Лінійний характер графіків Штерна-Фольмера свідчить про динамічний характер гасіння флуоресценції. Визначені на основі нахилу прямої Штерна-Фольмера значення K_{s-v} становлять $5,39 \pm 0,18$ та $0,67 \pm 0,04$ для акриламід та іонів Cs⁺ відповідно.

Більш ефективне гасіння триптофанової флуоресценції міні-TyrRS акриламідом порівняно з іонами Cs⁺ можна пояснити позитивно зарядженим оточенням залишку триптофану W40 в активному центрі ферменту та флуктуацією білкової матриці в наносекундному часовому діапазоні, що забезпечує дифузію нейтральних молекул акриламіда до флуорофора.

1. Schimmel S. P. (1987) Aminoacyl-tRNA synthetase: general features and recognition of transfer RNAs. *Annual Review of Biochemistry*, 56, 125-158.
2. Kornelyuk, A. I. (1998) Structural and functional investigation of mammalian tyrosyl-tRNA synthetase. *Biopolymers and Cell*, 14, 349-359.
3. Savytskyi O. V., Yesylevskyi S. O., Kornelyuk A. I. (2013) Asymmetric structure and domain binding interfaces of human tyrosyl-tRNA synthetase studied by molecular dynamics simulations. *Journal of Molecular Recognition*, 26, 113-120.

Вплив похідного тіазолу на про- та антиоксидантні процеси в клітинах лімфони Немет-Келнера

Шалай Я. Р., Мандзинець С. М., Попович М. В., Гренюх В. П., Бабський А. М.

Львівський національний університет імені Івана Франка, yarunash@gmail.com

Підвищений рівень активних форм Оксигену (АФО) виявлено майже в усіх злоякісних новоутвореннях [Шляховенко та ін., 2016]. Пухлинні клітини мають підвищений рівень активності антиоксидантних систем, яку інактивують різні форми АФО. Отже, баланс у регуляції внутрішньоклітинного рівня АФО є важливим чинником функціонування пухлин.

У наших попередніх роботах встановлено, що досліджуване у цій роботі похідне тіазолу (речовина 1) має високу цитотоксичну дію стосовно певних ліній пухлинних клітин та втрачає ці властивості за присутності ловців (скеведжерів) АФО у середовищі [Finiuk et al., 2018]. Тому актуальним було дослідити стан про- та антиоксидантної систем за дії речовини 1.

Досліди виконували на нелінійних мишах-самцях масою 20-30 г. Асцитну форму лімфони Немет-Келнера (NK/Ly) прививали внутрішньочеревною інокуляцією 10-15 млн ракових клітин. Асцит дренували стерильним шприцом під етерним наркозом на 7-10 добу після інокуляції тазаморожували до -20 °C і використовували для досліджень. Речовину 1 розчиняли у диметилсульфоксиді, додавали до дослідного зразка лімфони у діючих концентраціях 1, 10 та 50 мкМ та інкубували впродовж 10 хв. Інтенсивність прооксидантних процесів оцінювали за вмістом первинних (гідропероксидази) та вторинних (малонового діальдегіду) продуктів пероксидного окиснення ліпідів та за вмістом супероксидного радикалу. Роботу антиоксидантної системи захисту оцінювали за рівнем активності супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ) та глутатіонпероксидази (ГПО).

Рівень гідропероксидів у клітинах лімфони зростав за дії речовини у концентраціях 1 і 10 мкМ на 20% і 25% відповідно, тоді як рівень малонового діальдегіду дещо знижувався, а рівень супероксидного радикалу достовірно знижувався на 11%, 14% та 19% за дії речовини у концентраціях 1, 10 та 50 мкМ. Дослідивши активність ферментів антиоксидантної системи за дії речовини, ми встановили, що активність КАТ у гомогенаті лімфони знижувалась на 15% (концентрація речовини 10 мкМ, $p < 0,05$), тоді як активність СОД зростала на 35 % ($p < 0,01$) і 29 % ($p < 0,05$) за дії досліджуваної речовини у концентраціях 10 і 50 мкМ відповідно. Активність ГПО знижувалась за дії речовини у концентраціях 10 та 50 мкМ на 29% та 27% ($p < 0,05$) відповідно.

Отримані результати дозволяють припустити, що досліджуване похідне тіазолу реалізує свій цитотоксичний ефект через взаємодію з ферментами антиоксидантної системи. Зокрема, підвищення активності СОД з одночасним зниженням активності КАТ і ГПО зумовлює накопичення гідроксилрадикалу. Шляховенко та ін. [2016] вважають, що таке зростання гідроксилрадикалу може викликати зупинку клітинного циклу пухлинних клітин, їх старіння або апоптоз. Отримані результати можуть бути використані для подальших доклінічних випробувань досліджуваного похідного тіазолу, як протипухлинного препарату.

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

1. Finiuk NS et al. Evaluation of antiproliferative activity of pyrazolothiazolopyrimidine derivatives. (2018) *Ukr. Biochem. J.*;90(2):16-23.
2. Шляховенко ВО та ін. Протипухлинна дія активних форм кисню у штучно створених АФК-генеруючих системах. (2016) *Онкологія.*; 18(4):283-8.

Фізичні принципи організації петельних доменів ДНК у ядрах еукаріотичних клітин

Афанасьєва К.С.¹, Дужий Д.Є.², Войтенко Н.В.², Сиволоб А.В.¹

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології та медицини", arphon@ukr.net

²Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ, nana@biph.kiev.ua

На сучасному етапі розвитку біологічної науки питання просторової організації молекул ДНК у клітинних ядрах є одним із пріоритетних у молекулярній біології та біофізиці, адже розуміння фізичних принципів упаковки геному дає можливість встановити закономірності його функціонування та механізми контролю основних молекулярних процесів, що відбуваються у ядрі, зокрема таких як транскрипція, реплікація та репарація ДНК. Результати багатьох досліджень вказують на наявність у межах ядра відносно автономних хроматинових структур – петельних доменів, кінці яких зафіксовані на ядерних білках, зокрема білках CTCF та когезинових комплексах. Поява петель у ядрі у більшості випадків сполучена з транскрипцією, отже, петельні домени ДНК відіграють значну роль у просторовій координації та регуляції синтетичних процесів ядра. На сьогоднішній день залишаються відкритими багато питань щодо просторової структури петельних доменів. Зокрема, нез'ясованими залишаються питання про особливості організації петель ДНК у клітинах різних типів та про динаміку петельної організації ядра при зміні функціонального стану клітин.

У даній роботі представлені результати дослідження просторової структури петель ДНК у клітинах різних типів, оцінені за допомогою методу електрофорезу ДНК ізольованих клітин (кометного електрофорезу) у розробленій нами модифікації, та біоінформатичного аналізу даних, отриманих методом Hi-C. Отримані результати вказують, що такі параметри петельної організації еукаріотичних ядер як відносна кількість петель різних типів, їх щільність, топологічний стан та розподіл за розміром є клітинно-специфічними і залежать від транскрипційної активності клітин. Загалом, для клітин із високим рівнем транскрипційних процесів характерними є підвищення середньої контурної довжини петельних доменів, а також зростання частки петель, що розташовуються на периферії ядра на фоні зменшення відносної кількості внутрішніх ядерних петель. Щільність петельних доменів є вищою для клітин із низькою транскрипційною активністю. Еухроматинові зони ядра містять майже вдвічі більше петельних доменів, ніж гетерохроматинові; при цьому медіанний контурний розмір гетерохроматинових петель є приблизно вдвічі більшим у порівнянні з еухроматиновими.

Встановлені нами особливості структури петель ДНК та закономірності їх зміни при різних функціональних станах клітин можуть бути використані у якості маркерів для прогнозу певних трансформацій у нормальному функціонуванні клітин чи дискримінації популяцій клітин у яких такі трансформації вже відбулися. Обговорюється принципова можливість використання методу електрофорезу ДНК ізольованих клітин у представленій модифікації для аналізу петельної організації еукаріотичних ядер.

A QM/QTAIM comprehensive survey of the novel pathways of the mutagenic tautomerization of the T nucleobase in the classical A·T DNA base pairs

Brovarets' Ol'ha O.^{1,2,3}, Tsiupa Kostiantyn S.¹, Dinets Andrii⁴, Hovorun Dmytro M.^{1,2,5}

¹Department of Molecular and Quantum Biophysics, Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, o.o.brovarets@gmail.com

²Department of Molecular Biotechnology and Bioinformatics, Institute of High Technologies, Taras Shevchenko National University of Kyiv, persianboy@ukr.net

³Department of Pharmacology, Bogomolets National Medical University

⁴Department of Surgery #4, Bogomolets National Medical University, andrii.dinets@gmail.com

⁵Department of Pathophysiology, Bogomolets National Medical University, d.m.hovorun@imbg.org.ua

For the first time using quantum-mechanical (QM) calculations in combination with Bader's quantum theory of "Atoms in Molecules" (QTAIM) at the MP2/aug-cc-pVDZ//B3LYP/6-311++G(d,p) level of QM theory in the continuum with $\epsilon=1$, we have theoretically demonstrated for the first time that revealed recently highly-energetic conformers of the classical A·T DNA base pairs – Watson-Crick A·T(w_{WC}), reverse Watson-Crick A·T(w_{rWC}), Hoogsteen A·T(w_H) and reverse Hoogsteen A·T(w_{rH}) – act as intermediates of the intrapair mutagenic tautomerization of the T nucleobase owing to the novel tautomerisation pathways: $A\cdot T(w_{WC}) \leftrightarrow A\cdot T^*(w_{WC}^\perp)$; $A\cdot T(w_{rWC}) \leftrightarrow A\cdot T^*_{O2}(w_{rWC}^\perp)$; $A\cdot T(w_H) \leftrightarrow A\cdot T^*(w_H^\perp)$; $A\cdot T(w_{rH}) \leftrightarrow A\cdot T^*_{O2}(w_{rH}^\perp)$.

Established tautomerizations proceed through a two-step mechanism of the two-step protons moving in the antiparallel directions along the intermolecular H-bonds through the transition states (TSs) of these mutagenic tautomerisations as tight $A^+ \cdot T^-$ ion pairs (A^+ , protonated by the N6H₂ amino group)·(T^- , deprotonated by the N3H group) with quasi-orthogonal geometry, which are stabilized by the participation of the strong (A)N6⁺H···O4⁻/O2⁻(T) and (A)N6⁺H···N3⁻(T) H-bonds.

Products of these reactions – $A\cdot T^*(w_{WC}^\perp)$, $A\cdot T^*_{O2}(w_{rWC}^\perp)$, $A\cdot T^*(w_H^\perp)$ and $A\cdot T^*(w_{rH}^\perp)$ – are non-planar, conformationally-labile complexes and stabilized by the participation of the (A)N6H/N6H'···N3(T) and (T)O2H/O4H···N6(A) H-bonds, for which the pyramidalized amino group of A is their donor and acceptor. The Gibbs free energy of activation of these mutagenic tautomerizations lies in the range of 27.8-29.8 kcal·mol⁻¹ at T=298.15 K in the continuum with $\epsilon=1$.

Also it was shown that the formed $A\cdot T^*(w_{WC}^\perp)$, $A\cdot T^*(w_H^\perp)$, $A\cdot T^*_{O2}(w_{rWC}^\perp)$ and $A\cdot T^*_{O2}(w_{rH}^\perp)$ mispairs can conformationally interconvert into each other according to the pathways $A\cdot T^*(w_{WC}^\perp) \leftrightarrow A\cdot T^*(w_H^\perp)$ and $A\cdot T^*_{O2}(w_{rWC}^\perp) \leftrightarrow A\cdot T^*_{O2}(w_{rH}^\perp)$ through three different TSs.

This work was partially supported by the Grant of the President of Ukraine to support the research of young scientists from the State Fund for Fundamental Research of Ukraine of the Ministry of the Education and Science of Ukraine given to DrSci Ol'ha O. Brovarets' in 2018 year.

1. Brovarets', O. O., Tsiupa, K. S., Dinets, A. & Hovorun, D. M. (2018). Unexpected routes of the mutagenic tautomerization of the T nucleobase in the classical A·T DNA base pairs: A QM/QTAIM comprehensive view. *Frontiers in Chemistry*, doi: 10.3389/fchem.2018.00532.

A QM/QTAIM investigations of the mutual structural transformations of the Watson-Crick and reverse Watson-Crick A·T DNA base pairs into the Hoogsteen and reverse Hoogsteen forms

Brovarets' Ol'ha O.^{1,2,3}, Tsiupa Kostiantyn S.¹, Hovorun Dmytro M.^{1,2,4}

¹Department of Molecular and Quantum Biophysics, Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, o.o.brovarets@gmail.com

²Department of Molecular Biotechnology and Bioinformatics, Institute of High Technologies, Taras Shevchenko National University of Kyiv, persianboy@ukr.net

³Department of Pharmacology, Bogomolets National Medical University

⁴Department of Pathophysiology, Bogomolets National Medical University, d.m.hovorun@imbg.org.ua

By using quantum-mechanical (QM) calculations at the MP2/aug-cc-pVDZ//B3LYP/6-311++G(d,p) level of QM theory in the continuum with $\epsilon=4$ under normal conditions in combination with Bader's quantum theory of "Atoms in Molecules" (QTAIM), it was theoretically shown that discovered by us recently [1] high-energetical, significantly non-planar (symmetry C_1), short-lived wobbled conformers of the classical Watson-Crick A·T(WC), reverse Watson-Crick A·T(rWC), Hoogsteen A·T(H) and reverse Hoogsteen A·T(rH) DNA base pairs - A·T(w_{WC}), A·T(w_{rWC}), A·T(w_H) and A·T(w_{rH}) - are the intermediates of the pairwise A·T(WC) / A·T(rWC) \leftrightarrow A·T(H) / A·T(rH) conformational transformations due to their ability to transform according to the A·T(w_{WC})/A·T(w_{rWC}) \leftrightarrow A·T(w_H)/A·T(w_{rH}) transitions [2].

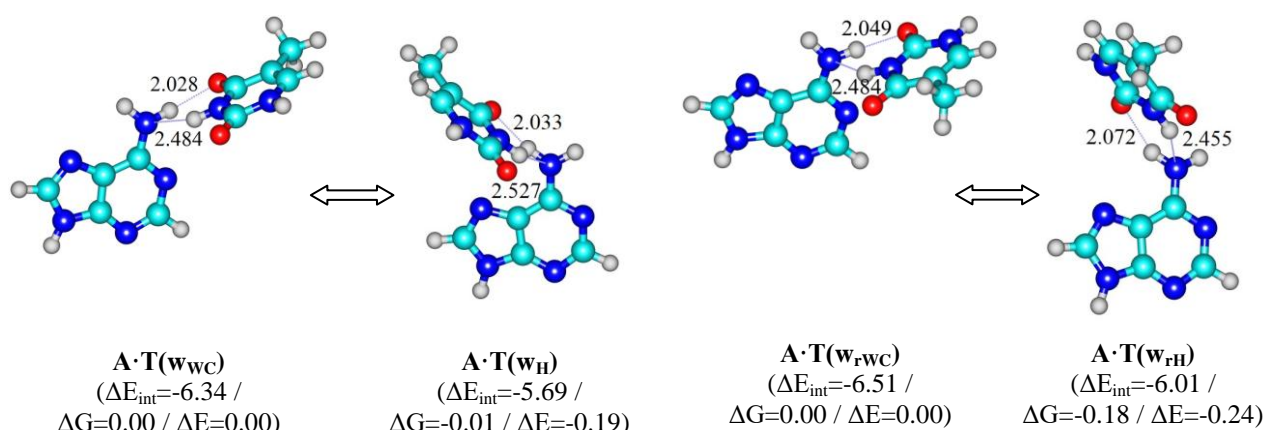


Fig. The A·T(w_{WC}) \leftrightarrow A·T(w_H) and A·T(w_{rWC}) \leftrightarrow A·T(w_{rH}) conformational transformations [2].

These transitions do not require for their realization the energy-consumable anisotropic rotation of the amino group of A around the exocyclic C6-N6 bond. The A·T(w_{WC}) \leftrightarrow A·T(w_H) and A·T(w_{rWC}) \leftrightarrow A·T(w_{rH}) conformational transformations are controlled by the non-planar transition states with Gibbs free energies of activation of 7.33 and 7.81 kcal·mol⁻¹, accordingly, and are stabilized by the participation of the single intermolecular (T)N3H··N6(A) H-bond (~4 kcal·mol⁻¹).

This work was partially supported by the Grant of the President of Ukraine to support the research of young scientists from the State Fund for Fundamental Research of Ukraine of the Ministry of the Education and Science of Ukraine given to DrSci Ol'ha O. Brovarets' in 2018 year.

1. Brovarets', O. O., Tsiupa, K. S. & Hovorun, D. M. (2018). Surprising conformers of the biologically important A·T DNA base pairs: QM/QTAIM proofs. *Frontiers in Chemistry*, 6:8; doi: 10.3389/fchem.2018.00008.

2. Brovarets', O. O., Tsiupa, K. S., Hovorun, D. M. (2018). Non-dissociative structural transitions of the Watson-Crick and reverse Watson-Crick A·T DNA base pairs into the Hoogsteen and reverse Hoogsteen forms. *Scientific Reports*, 8, 10371.

РОЗДІЛ 3. МЕДИЧНА ТА ЕКОЛОГІЧНА БІОФІЗИКА

Вплив C₆₀ фулеренів на механокінетичні та біохімічні параметри скорочення *muscle soleus* хронічно-алкоголізованих щурів з експериментально-індукованою ішемією

Ноздренко Д.М.¹, Зай С.Ю.², Мотузюк О.П.², Богуцька К.І.¹, Прилуцький Ю.І.¹

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
вул. Володимирська 64, 01601 Київ, Україна; ddd@univ.kiev.ua

²Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки,
просп. Воли 13, 43025 Луцьк, Україна; svitlana.zay91@ukr.net

Досліджено та проаналізовано вплив водорозчинних C₆₀ фулеренів на механокінетичні та біохімічні параметри скорочення камбалоподібного м'яза (*musculus soleus*) алкоголізованих щурів-самців лінії Wistar (140-160 г) за ішемії тривалістю 1 та 2 год. Зокрема, як маркери м'язової деструкції, визначали силу скорочення м'яза та рівні креатиніну, креатинфосфокінази і лактатдегідрогенази у крові тварин.

Встановлено, що ішемічне пошкодження м'яза на тлі алкогольної міопатії призводить до його значних функціональних змін, причиною яких є виснаження клітинних енергетичних субстанцій, особливо розпад АТФ, та зміна концентрації кальцію у міоплазмі, що призводить до різкого порушення гомеостазу і втрати іонного градієнта через клітинні мембрани, а також зменшення кількості поперечних актин-міозинових містків, які утворюються під час скорочення. Ці патологічні зміни опосередковані дією вільних радикалів, які пошкоджують клітинні компоненти, зокрема сарколему та мітохондрії, на тлі пригнічення антиоксидантних систем організму [1]. Виражений протекторний ефект водорозчинних C₆₀ фулеренів на механокінетичні та біохімічні показники ішемізованого м'яза алкоголізованих щурів можна пояснити їх мембранотропними та потужними антиоксидантними властивостями [2, 3].

Протекторна дія C₆₀ фулеренів за оптимальної терапевтичної дози 1 мг/кг виявилась найбільш ефективною у випадку ентерогастрального введення тваринам (упродовж 5 днів) за ішемії м'яза початкового ступеня тяжкості (у нашому випадку – тривалістю 1 год.) на фоні алкогольної міопатії. Отримані результати можуть бути корисними у подальшому вивченні деградації скоротливої функції м'язів, а також пошуку нових ефективних наноагентів у терапії порушень роботи опорно-рухового апарату, пов'язаних з ішемічними пошкодженнями на тлі алкогольної інтоксикації організму.

1. Nozdrenko, D.M., Zavodovsky, D.O., Matvienko, T.Yu., Zay, S.Yu., Bogutska, K.I., Prylutsky, Yu.I., Ritter, U., Scharff, P. (2017) 'C₆₀ fullerene as promising therapeutic agent for the prevention and correction of skeletal muscle functioning at ischemic injury', *Nanoscale Res Lett*, 12(1):115, doi: 10.1186/s11671-017-1876-4 doi: 10.1186/s11671-017-1876-4.

2. Gharbi, N., Pressac, M., Hadchouel, M., Szwarc, H., Wilson, S.R., Moussa, F. (2005) '[60]fullerene is a powerful antioxidant *in vivo* with no acute or subacute toxicity', *Nano Lett*, 5(12), p2578-2585.

3. Vereshchaka, I.V., Bulgakova, N.V., Maznychenko, A.V., Gonchar, O.O., Prylutsky, Y.I., Ritter, U., Moska, W., Tomiak, T., Nozdrenko, D.M., Mishchenko, I.V., Kostyukov, A.I. (2018) 'C₆₀ fullerenes diminish muscle fatigue in rats comparable to N-acetylcysteine or β-alanine', *Front Physiol*, 9:517, doi: 10.3389/fphys.2018.00517.

Використання акселерометрії для оцінки фізіологічного тремору людини

Гнатчук І. Ю., Манько В.В.

Львівський національний університет імені Івана Франка

e-mail: iryna.gnatchuk@lnu.edu.ua, volodymyr.manko@lnu.edu.ua

Фізіологічний тремор – мимовільні і безперервні коливання всього тіла або його частин, що спостерігаються у здорових людей. Він виникає за рахунок взаємодії механічних і нейро-гуморальних чинників [2]. Але механізми виникнення тремору і досі залишаються предметом обговорення. Завдяки науково-технічному прогресу стала можливою реєстрація конкретних параметрів тремору за допомогою нейрофізіологічних приладів [1]. Акселерометри, крім доступності на ринку та дешевої ціни, дають можливість зареєструвати прискорення, яке є прямо пропорційним загальній силі тремору. Саме тому метою роботи була реєстрація фізіологічного тремору за допомогою акселерометра, обробка отриманих результатів, а також аналіз змін, що виникають за різної активності м'язів кінцівки.

Для реєстрації параметрів тремору використали пристрій, зібраний на базі акселерометра MPU6050. Сигнал прискорення у трьох взаємоперпендикулярних осях обробляли, використовуючи перетворення Фур'є та мультипіковий аналізатор (програма OriginPro). Достовірність змін визначали за методом Стюдента.

Реєстрація частоти і амплітуди тремору здійснювалась у двох положеннях руки (долонею та ребром донизу) та у трьох позиціях кисті – у спокої, постуральному стані (кисть розміщувалась паралельно до опорної поверхні) та під час навантаження (на кисть у постуральному стані підвішували гирі масою 100 та 200 г). Тремор, спричинений відведенням-приведенням променево-зап'ясткового суглоба, реєструвався вздовж сагітальної осі (осі у), згинанням-розгинанням променево-зап'ясткового суглоба – вздовж фронтальної осі (осі z), рухом в дистально-проксимальному напрямку – вздовж осі x. У положенні руки долонею донизу частота фізіологічного тремору у спокої становила вздовж осі x $7,74 \pm 0,28$ Гц, осі у – $7,38 \pm 0,34$ Гц, осі z – $7,47 \pm 0,22$ Гц. Переведення кисті в постуральний стан привело до збільшення частоти тремору вздовж осі z до $8,10 \pm 0,18$ Гц. Під час навантаження кисті гирею масою 100 г зареєстровано зменшення частоти фізіологічного тремору вздовж осі z на 20,6%, а навантаження гирею 200 г привело до зменшення частоти тремору вздовж осі x, у та z на 12,17, 17,98 та 29,75% відповідно. Амплітуда коливань кисті у спокої вздовж осі x становила $0,12 \pm 0,01$ мм, осі у – $0,22 \pm 0,02$ мм, осі z – $0,24 \pm 0,02$ мм. У постуральному стані вона зросла вздовж трьох осей на 33,33, 90,00 та 216,00% відповідно. Під час навантаження гирею 100 г амплітуда зменшилась вздовж осі z на 44,74%, а навантаження 200 г зумовило зниження амплітуди тремору вздовж осі z на 47,37%. У положенні руки ребром донизу частота фізіологічного тремору вздовж осі x становила $7,10 \pm 0,31$ Гц, осі у – $6,48 \pm 0,43$ Гц, осі z – $6,97 \pm 0,22$ Гц. Переведення кисті в постуральну позицію зумовило зростання частоти тремору вздовж осі у на 40,28 %. Під час навантаження кисті гирями масою 100 і 200 г зареєстровано зменшення частоти фізіологічного тремору лише вздовж осі у – на 13,31 та 25,19% відповідно.

Отже, використання акселерометра MPU6050 дає можливість зареєструвати зміни прискорення вздовж трьох осей, а це, у свою чергу, – оцінити два параметри (частоту й амплітуду) фізіологічного тремору, які у різних положення кінцівки вздовж різних осей суттєво відрізняються.

1. McAuley J.H, Marsden C.D. Physiological and pathological tremors and rhythmic central motor control, *Brain*, 123, 1545-1567.
2. Takanokura M., Sakamoto K. Neuromuscular control of physiological tremor during elastic load, *Med Sci Monit*, 11(4), 143-152.

Динаміка рівня CO_2 у альвеолярному повітрі при гіпервентиляції

Коваленко С.О.¹, Завгородня В.А.²

¹Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького, kovstas@cdu.edu.ua

²Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького, , victoria_myronyuk@ukr.net

Гіпервентиляція легенів приводить до розвитку гіпокапнії, що виникає в результаті надмірного виділення вуглекислого газу з організму та призводить до респіраторного алкалозу. При цьому виникає цілий комплекс вегетативних та психофізіологічних порушень названих «гіпервентиляційним синдромом». Гіпервентиляція виникає під впливом екологічних факторів, нервово-психічних навантажень, у спортивній діяльності, при введенні фармакологічних речовин, супроводжує ряд захворювань. Довільна гіпервентиляція застосовується у професійній діяльності, для оцінки адаптаційних можливостей організму та виявлення схованої патології. Втім досліджень індивідуальних особливостей динаміки змін CO_2 у альвеолярному повітрі при пробах з гіпервентиляцією та після них недостатньо. Тому метою нашого дослідження було проаналізувати динаміку змін рівня диоксиду вуглецю у альвеолярному повітрі упродовж проби регламентованого дихання з частотою 30 циклів за хвилину у здорових молодих чоловіків.

Вимірювання здійснені на 81 здорових молодих чоловіках віком 18-22 роки в умовах наближених до стану основного обміну з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики. Рівень CO_2 у видихуваному повітрі визначали у боковому потоці методом інфрокрасної спектрометрії на капнографі Datex Normocap (Finland). Напруження CO_2 у альвеолярному повітрі оцінювали за його рівнем в кінці видиху (PetCO_2). Спочатку проводили записи капнограми дихання 5 хвилин у спокої сидячи, далі - упродовж 10 хвилин регламентованого дихання з частотою 30 циклів за хвилину та 40 хвилин відновного періоду після тесту. Статистичний аналіз даних здійснювали методами параметричної статистики.

Показано, що одразу ж після початку форсованого дихання відбувається суттєве зниження PetCO_2 та досягнення його найменших значень до 5-7-ї хвилин проби (рис. 1).

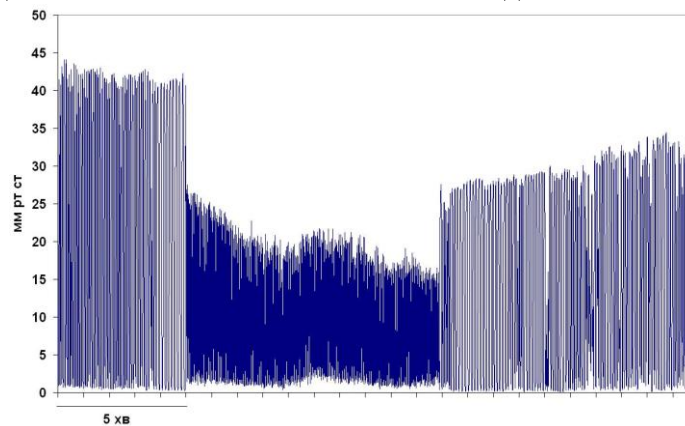


Рис. 1. Індивідуальна динаміка рівня CO_2 у видихуваному повітрі при проведенні гіпервентиляції з частотою 30 циклів за хвилину

Після закінчення проби PetCO_2 стрімко збільшується. Втім навіть на 40 хвилині відновлення його значення вірогідно ($p < 0,001$) нижчі за рівень у спокої (відповідно $37,26 \pm 0,404$ мм рт.ст. та $40,12 \pm 0,361$ мм рт.ст.). З'ясовано, що реактивність PetCO_2 на пробу та його відновлення у різних осіб суттєво розрізняються. Показано, що динаміка цих характеристик залежить від вихідного рівня CO_2 у альвеолярному повітрі та частоти дихання досліджуваних. Таким чином гіпервентиляція з частотою 30 циклів за хвилину призводить до суттєвого та тривалого зниження рівня CO_2 в альвеолярного повітрі амплітуда котрого залежить від його вихідного рівня. Це дозволяє розширити можливості такого впливу для діагностики та корекції стану організму.

Action of memantine on time characteristics of sensory-motor responses in rats

Gorbachenko V.A.¹, Kruchenko Zh.¹, Tyshchenko Y.M.¹, Vrublevsky S.V.¹, Lukyanetz E.A.¹

¹Department of Biophysics of Ion Channels, Bogomoletz Institute of Physiology, NASU, Kyiv, Ukraine, GorbachenkoVasyl@ukr.net, elena@biph.kiev.ua.

It is known that Alzheimer's disease (AD) causes almost half of the cases of dementia, relating to neurodegenerative diseases. It is characterized by memory loss, weakening of cognitive abilities and serious changes in the dynamics of long-term behaviour. AD is accompanied by hippocampus-dependent disorders of learning and memory related to violation of synaptic density, as well as increased levels of beta-amyloid in brain. Memantine, which is an NMDA receptor antagonist, is used for the treatment of AD. The aim of our studies was to determine the effect of memantine on time characteristics of sensory-motor responses (SMR) in rats. Temporal features of motor phenomena of rats in the performance of food operant conditioned reflex of obtaining food from feeder to response on a short beep were studied. Previously, we have shown that memantine influence on behavioural reaction of rats such as the main forms of motor research behavior of rats of different ages and open field, (4,5). Here we used the device and software developed by us (1) to register the individual components of SMR, the latent period, time of motor response obtaining food, the amount of attempts needed for this and other timing were analysed (2, 3). In our experiments we found that memantine increased the performance of old rats and slowed down their motor responses. Temporal characteristics of individual units of SMR are informative indicators of the functional state of CNS. Thus, these indicators characterize the speed of information processing in CNS and the overall level of excitability and motivation of animals. We supposed that SMR can be used for quantitative estimation of changes in brain activity.

All experiments with animals were carried out in accordance with the rules of the national law and the norms of bio-legislation.

1. Gorbachenko V.A. ; Chereda I. C. ; Vrublevsky S.V. ; Lukyanets O. O. pat. Device for determining the temporal parameters of the food conditioned reflex. Application number: u 2015 11913, (22) Date of application: 02.12.2015, (24) Date of validity of the right to utility model: 04/25/2016, (46) Publication of information about the issuance of a patent: 04/25/2016, Byul No. 8, (2016).
2. Gorbachenko V., Chereda I., Kruchenko J., Lukyanetz E.A. Measurements of the time parameters of conditioned food reflex in rats under memantine treatment with using of automatic registration system. Bulletin of the Taras Shevchenko National University of Kyiv. Radio physics and electronics. Kyiv National Taras Shevchenko University. - Kyiv: Kyiv Polytechnic University, 1 (23), 23-26, (2015).
3. V. Gorbachenko V., Chereda I., Vrublevsky S., Kruchenko J, Lukyanetz O. Development and testing of the experimental system for registration of food reflex in rats. Bulletin of the Taras Shevchenko National University of Kyiv. Radiophysics and Electronics / Kyiv National Taras Shevchenko University. - Kyiv: Kyiv Polytechnic University, 1/2 (21/22), 31-33, (2014).
4. Zh. A. Kruchenko, V. A. Gorbachenko, I. S. Chereda, and E. A. Lukyanetz . Effect of Memantine on Motor Behavioral Phenomena in Rats of Different Ages . Neurophysiology, Vol. 45, No. 5, 2014 p. 448-451, (2014).
5. Tyshchenko Yu. M., Lukyanetz E.A. Effects of Memantine on Behavioral Indices of Rats in the Open Field. Neurophysiology, Volume 49, Issue 6, pp 453–457 (2017).

Підготовка трансдюсерної поверхні оптичного біосенсора для експрес-індикації мікроорганізмів

Кеппл О. Ю.¹, Ушкалов В. О.¹, Стародуб М. Ф.²

¹Українська лабораторія якості та безпеки продукції АПК

²Кафедра молекулярної біології, екології та біобезпеки, Національний університет біоресурсів і природокористування України

Оптичні біосенсиори на базі поверхневого плазмонного резонансу є потужним аналітичним інструментом і альтернативною технологією швидкого експресного визначення мікроорганізмів та токсинів.

Метою нашої роботи було розробити методику експрес-індикації *P. aeruginosa* методом поверхневого плазмонного резонансу в модельних розчинах. Для покращення чутливості і стабільності результатів вимірювань було проведено ряд досліджень щодо модифікації поверхні трансдюсера за допомогою поліелектролітів та білку А *Staphylococcus aureus*.

Матеріалом для досліджень були високоспецифічні сироватки проти *P. aeruginosa* (штам *P. aeruginosa* ATCC 9027), отримані шляхом імунізації тварин-донорів (в нашому випадку кролів), антиген еталонний штам ATCC № 9027, одержаний із Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (м. Київ) та аналітичний прилад імуносенсор «Плазмон-Spr-4М», розроблений в Інституті фізики напівпровідників НАН України». Спектроскопія ППР проводиться в конфігурації Кретчмана з використанням He-Ne лазера з $\lambda = 632,8$ нм як джерела світла, гоніометра Г-5М, скляної призми та фотодіоду (ФД 263). Для забезпечення оптичного контакту між призмою і металевою плівкою, нанесеною на скляну поверхню, використовували імерсійну рідину (з коефіцієнтом заломлення $n = 1,62$). За допомогою біосенсору реєстрували взаємодію антиген-антитіло в режимі реального часу. На підготовлену поверхню трансдюсера наносили розчин антитіл, а після промивки фізіологічним розчином - суспензію клітин з відповідною концентрацією (від 10 кл в 1 мл і на порядки більше). Час експозиції кожного розчину становив від 5 до 10 хвилин за температури 25° С, оскільки надалі зміна резонансного кута не спостерігалася. На кожному етапі промивали комірки 0,9 % фізіологічним розчином.

Чутливість відгуку знаходилась в межах 10^1 – 10^3 кл./см³, тоді, як чутливість інших методик попередньої обробки трансдюсера становить від 10^2 кл./см³. Чутливість біосенсора з використанням моношару антитіл, сформованого на невикритій поверхні золота становила від 1000 кл./см³. Визначено, що сенсibiлізація Ig G *P. aeruginosa* на поверхні чіпу біосенсору на основі поверхневого плазмонного резонансу за допомогою додекантіолу або поліелектроліту поліаліаміну гідрохлориду є стабільною в часі та не руйнується під час промивання вимірювальної комірки забуференим фізіологічним розчином (рис. 1).

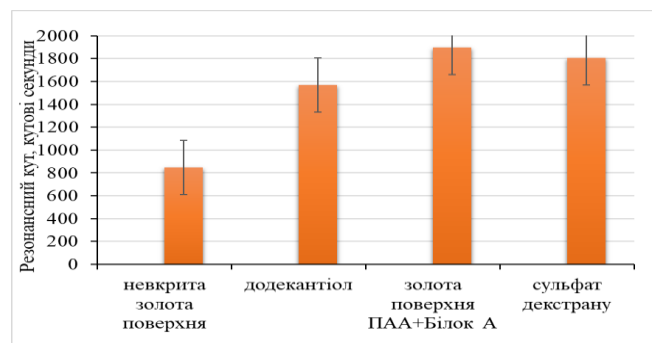


Рис. 1. Відгук імуносенсора на внесення розчину антигену до *P. aeruginosa* в концентрації 10 кл./см³ при використанні різних варіантів чутливої поверхні: 1 – некрите золото; 2 – додекантіол; 3 – золото, вкрите шаром поліаліамін гідрохлорид + білок А; 4 – сульфат декстрану

Дослідження продемонстрували, що в 9 з 10 тестових досліджень *P. aeruginosa* було виявлено в концентрації 10^1 – 10^6 кл./см³, а для отримання вірогідних результатів варто використовувати модифікацію поверхні біосенсора на основі поверхневого плазмонного резонансу за допомогою поліаліаміну гідрохлориду (20 нг/мл) і орієнтації антитіл за допомогою білку А *S. aureus* (Sigma-Aldrich).

Універсальною модифікацією робочої поверхні трансдюсера імуносенсора на основі поверхневого плазмонного резонансу визначено використання поліаліаміну гідрохлориду і сенсibiлізація антитіл за допомогою білку А *Staphylococcus aureus*.

РОЗДІЛ 4. ТЕОРЕТИЧНА БІОФІЗИКА, БІОФІЗИКА СКЛАДНИХ СИСТЕМ

Polymer-based hybrid nanocomposites for antitumor therapy: fundamental aspects of synthesis and characterization

Kutsevol N.V.¹, Naumenko A.P.¹, Harahuts Yu.I.¹, Martynuyk V.S.¹, Chekhun V.F.²

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, Volodymyrska, 60, Kyiv 01601, Ukraine, kutsevol@ukr.net

²R.E. Kavetsky Institute for Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, Vasilkivska, 45, Kyiv 03022, Ukraine, chekhun@onconet.kiev.ua

The goal of this work was to create and study hybrid nanocarriers based on new biocompatible star-like copolymers (uncharged, pH-sensitive and thermosensitive) for photodynamic and drug anticancer therapy.

Polymer nanocarrier: Copolymers consisted of Dextran core and grafted Polyacrylamide (uncharged and in anionic form) or thermosensitive Poly-N-iso-Propylacrylamide (PNIPAM) arms. Polymers were characterized by using Dynamic, Static light scattering and Size-exclusion chromatography. It was shown the possibility to control the internal molecular structure of star-like copolymers. **Dual nanosystems:** Polymer/Au, Polymer/Ag, and Polymer/Cisplatin, Polymer/Doxorubicin (Dox) were synthesized and characterized by TEM, Zeta-Sizer, UV-Vis spectroscopy. Nanosystems biological activity was tested. All nanosystems were stable in time. The effect of laser illumination on aqueous solutions of star-like Dextran-graft-Polyacrylamide copolymer with incorporated gold nanoparticles was studied by holographic interferometry technique. An unusual effect of the localization of the radiation heating of the solution volume in the region of the laser beam passage was observed. Its effect can be used for thermal anticancer therapy. Polymer Dextran-graft-Polyacrylamide (in anionic form) loaded with antitumor drug cisplatin revealed dose-dependent decrease in viability of chronic myelogenous leukemia and histiocytic lymphoma cells. In the case of nanosystem Dextran-PNIPAM/Dox the incubation with HeLa cells reveals the fact that Dextran-graft-PNIPAM copolymer acts as the Dox molecules transporter into cells, actively releasing them to the intracellular space at physiological temperature. For nanosystem Dextran-graft-PNIPAM/photosensitizer photophysical properties of the copolymer complexes with several Chlorin e6 derivatives as function of temperature have been studied. It was shown that the applicability of PNIPAM as smart drug-delivery system is dependent strongly on the properties of loaded photosensitizer. **Trial nanosystems:** Polymer/Ag/Cisplatin, Polymer/Au/Chlorin e6 were prepared and studied. When the copolymers were conjugated to both nanosilver and Cisplatin, such a nanosystems displayed less cytotoxic effect compared to Polymer/Cisplatin system. The aggregation process was registered in trial nanosystems, that cause the decreasing of antitumor efficiency.

Polymers Dextran-graft-Polyacrylamide (uncharged and in anionic form) were loaded with Au nanoparticles and Chlorin e6, then, tested for photodynamic antitumor therapy on malignant cell line MT-4. The nanocomposite photosensitizer synthesized in anionic polymer was more efficient and demonstrated twofold increase of photodynamic efficacy compared to the free photosensitizer. Significant antitumor photodynamic activity of the nanocomposite photosensitizer was confirmed in experiments on photodynamic therapy of Lewis lung carcinoma, transplanted into laboratory mice, that warrants the photosensitizer prospective preclinical studies [1].

Acknowledgement: Publications are based on the research provided by support in part by the grant of the State Fund For Fundamental Research (project Ф76/64-2017) and the grant of the Department of Targeted Training of Taras Shevchenko National University of Kyiv at National Academy of Sciences of Ukraine, project 28Ф.

1. Kutsevol N., Naumenko A., Harahuts Yu. et al. (2018) New hybrid composites for photodynamic therapy: synthesis, characterization and biological study. *Appl Nanosci* <https://doi.org/10.1007/s13204-018-0768-y>

Influence of synaptic excitation intensity and temperature on activity of CA3 hippocampal pyramidal neurons: a simulation study

Kaspirzhnyi A.V.¹

¹ State Establishment "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", 9, Volodymyr Vernadsky str. Dnipro, 49044, Ukraine, E-mail: kaspirzhnyi@gmail.com

Hippocampal pyramidal neurons have large dendritic branching, which accounts up to 90% of the total membrane surface and input synaptic contacts. The membrane of dendrites besides passive electrical conductivity also contains active mechanisms, and for dendrites of large neurons, a stochastically ramified form is characteristic. This makes dendrites a nonlinear and stochastic system that can generate its own electric activity. An axial current that flows from dendrites to the soma regulates the generation of the output signal of the neuron. The elucidation of the biophysical mechanisms of relations between complex geometry and nonlinear properties of dendrites and forming of the output signals of neurons is a topical problem of neuroscience and the computer simulation is a popular tool for its solution. The purpose of this work was to define how the discharge patterns of action potentials (APs) of hippocampal pyramidal neurons depend on the intensity of activation of excitatory synaptic inputs distributed over the dendrites and temperature. Our interest in the temperature dependence of the patterns is motivated by the use of therapeutic hypothermia for treatment of drug-resistant epileptiform activity, of which the foci are often localized in the hippocampus.

Investigations were performed in the NEURON software environment on a model of CA3 hippocampal pyramidal neuron [1] from the open database **modelDB** (reference number 101629). The reconstructed dendritic arborization of the neuron contained voltage-dependent ion channels, which conducted inactivating sodium current, calcium currents of N-, L- and T-types, potassium currents of four types, calcium-dependent potassium currents of K_C and K_{ATP} types, non-specific cationic h-type current activated by hyperpolarization, and voltage independent passive leak current and synaptic current. The model also took into account the dynamics of intracellular calcium concentration.

Our previous studies [2, 3] showed that a single isolated segment of the dendritic membrane bearing the above described properties at low, high and intermediate intensities of constant synaptic excitation generated, respectively, a stable low or high level depolarization, or regular oscillations of the membrane potential – the dendritic spikes, and that switching between those activity modes could be achieved by application of external current, similar to the axial coupling current between segments of extending dendrite. In the present study, the CA3 neuron model generated patterns of APs, which, depending on the synaptic intensity, were characterized by the presence of periodically repeating single APs or their groups of different complexity, or were stochastic. Using the auto-correlation analysis of these patterns, an original criterion for their regularity (ordering) was derived. It was found that decrease in temperature from normal body level to the values characteristic of the systemic therapeutic hypothermia led to the expansion of the range of synaptic excitation intensities, in which the initial discharge was irregular, stochastic. The latter circumstance can be regarded as a factor contributing to the desynchronization of activity in the network of the hippocampal neurons and, therefore, suppression of the epileptiform activity.

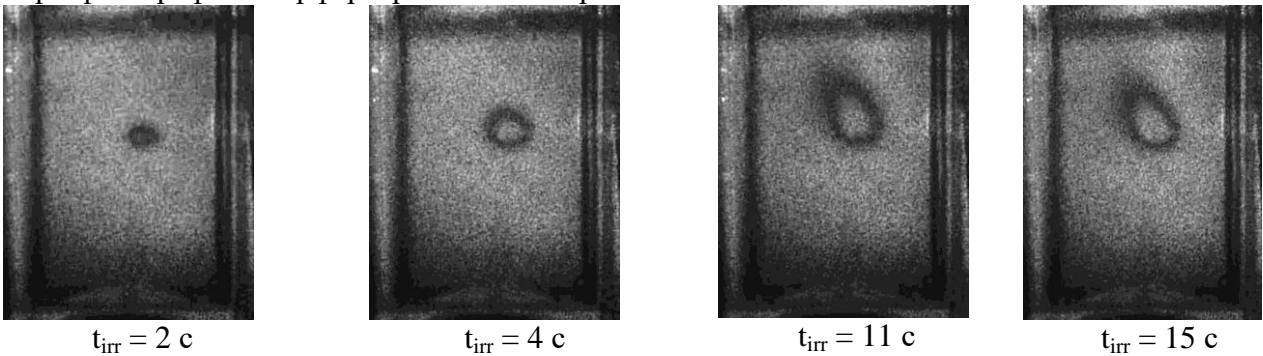
1. Hemond, P. et al. (2008) Distinct classes of pyramidal cells exhibit mutually exclusive firing patterns in hippocampal area CA3b. *Hippocampus*, 18(4), 411-424.
2. Kaspirzhnyi A.V. (2017) Local oscillatory properties of the dendritic membrane of hippocampal pyramidal neurons: a simulation study. *Neurophysiology*, 49(3), 178-182.
3. Kaspirzhnyi A.V. (2018) Conditions of switching between local electric activity modes in the dendritic membrane of hippocampal pyramidal neurons: a simulation study. *Neurophysiology*, 50(3), 152-158.

Аномальні зміни показника заломлення золь Au під впливом лазерного та НВЧ випромінювання

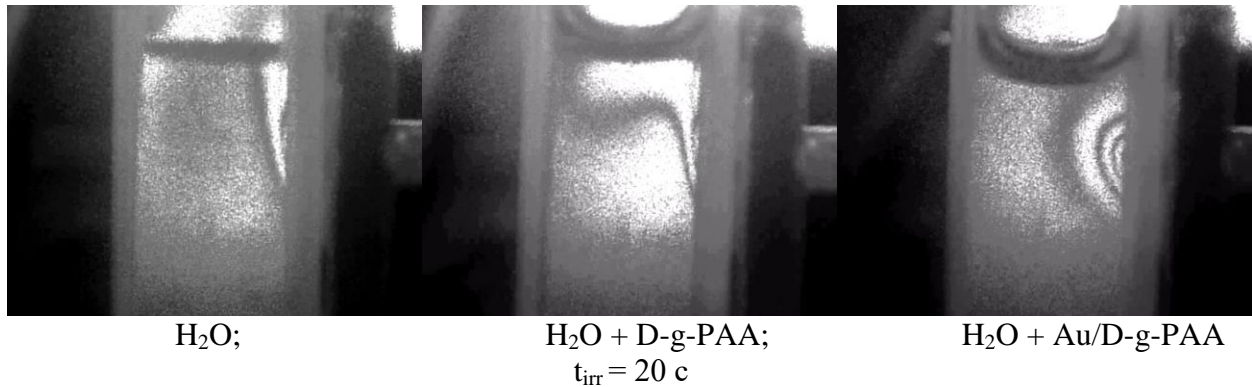
Гарагуц Ю.І., Давиденко М.О., Давиденко І.І., Куцевол Н.В., Мартинюк В.С., Мокринська О.В., Павлов В.О.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, e-mail ndav@univ.kiev.ua

Відомо, що гіпертермія може бути використана як один з способів лікування раку. Ідея - вбити клітини високою температурою. Джерела тепла можуть бути різними: мікрохвилі, радіохвилі, ультразвукові хвилі, лазерне випромінювання. Нами досліджено вплив лазерного випромінювання (650 нм) та НВЧ випромінювання (40 ГГц) на показник заломлення (n) водних розчинів кополімеру декстран-трансплантат-поліакриламід (D-g-РАА) та його модифікації з наночасточками золота (Au/D-g-РАА). Дослідження проведені з використанням метода голографічної інтерферометрії. Виявлені аномальні ефекти зміни показника заломлення (Δn) під час (t_{irr}) дії опромінення, що для приклада відображено на серії фотографій інтерферограм кювети з розчинами.



Серія I: Опромінення розчину $\text{H}_2\text{O} + \text{Au/D-g-РАА}$ лазером з $\lambda_{\text{irr}} = 650 \text{ нм}$ в центр кювети.



Серія II: Опромінення НВЧ з правої стінки кювети, в якій знаходяться різні розчини.

Характерною особливістю цих досліджень Δn є спостереження локалізації дифузії тепла в області дії збудження наночасточок Au. Зроблено висновок, що в обох випадках джерел збудження (поглинання лазерного випромінювання наночасточками Au (I); поглинання електромагнітного випромінювання НВЧ молекулами води (II)) поглинута енергія передається в основному на молекулярні коливання D-g-РАА, а дисипація енергії шляхом нагрівання води уповільнена. Віднайдені аномальні ефекти можуть бути використанні при подальшому дослідженні і використанні біологічно активних полімерів з наночасточками благородних металів.

Spectral manifestation of the small molecules interaction with metal nanoparticles in trial nanocomposites

Naumenko A.P., Kutsevol N.V., Yeshchenko O.A., Harahuts Yu.I., Chumachenko V.A.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Volodymyrska, 64/13, Kyiv 01601, Ukraine.
ap_naumenko@ukr.net

Cancer remains a major healthcare problem in the world despite strong research efforts towards tackling the disease. The nanomedicine seems is the promising approach in designing the cancer therapies mainly because nanosystems for drug delivery have likelihood to increase circulation half-life of the drug(s), improve pharmacokinetics, and reduce side. Polymer nanocarriers can improve drug solubility, prolong systemic drug half-life, and reduce harmful side effects. Moreover such system can deliver simultaneously two or more drugs for combination therapy.

The goal of the present work is to study dual (Polymer/Au, Polymer/Ag, Polymer/Cisplatin, Polymer/Berberine, Polymer/Doxorubicin (Dox) and Polymer/chlorin e6) and triple hybrid nanosystems (Polymer/Ag/Cisplatin, Polymer/Au/chlorin e6, Polymer/Au/Dox etc) based on new biocompatible branched star-like copolymers Dextran-graft-Polyacrylamide in non-ionic (D-g-PAA) or anionic (Dg-PAA(PE)) form and thermosensitive Poly-N-iso-Propylacrylamide (PNIPAM) polymer for photodynamic and drug anticancer therapy. UV-Vis spectroscopy as well as photoluminescence methods were used for characterization of these nanosystems.

Comparative analysis of the optical absorption spectra for dual (Polymer/MeNPs, Polymer/SMs) and trial (Polymer/MeNPs/SMs, Polymer/MeNPs/Photosensitizer) nanosystems allowed to conclude: i) both types of polymer matrices do not absorb in the range 300–800 nm; ii) the contributions of components of the triple system to the absorption spectrum of nanosystems are not additive, that testified the existence of the interaction of the small molecules (SMs) or photosensitizer Ce6 with MeNPs; iii) the dependence of the intensity of Sore band (405 nm) of Ce6 on the AuNPs concentration for D70-g-PAA/AuNPs/Ce6 and D70-g-PAA(PE)/AuNPs/Ce6 trial nanosystems demonstrated that the efficiency of Ce6 decreases more slowly with increasing of AuNPs concentration for nanosystem synthesized in anionic polymer matrix in comparison with nonionic one. It was concluded that the nanosystem D-g-PAA(PE)/AuNPs/Ce6 is more efficient and can be used in the more wide region of the AuNPs concentration for photodynamic antitumor therapy.

Acknowledgements: This publication is supported in part by the grant of the State Fund For Fundamental Research (Ukraine), project Ф76/64-2017 and by the grant of the Department of Targeted Training of Taras Shevchenko National University of Kyiv at National Academy of Sciences of Ukraine, project 28Ф.

Hybrid hydrogels based on polyacrylamide: promising advanced materials for biomedical applications

Nadtoka O.¹, Krysa V.², Kutsevol N.¹, Krysa B.²

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, 64/13, Volodymyrska Street, 01601, Ukraine

²Ivano-Frankivsk National Medical University, Galytska 2, 76000, Ukraine

Hybrid hydrogels based on Polyacrylamide (PAA) were prepared by using N,N'-methylene-bis-acrylamide as cross-linker during radical polymerization of two component Dextran/Acrylamide system. Our previous research has shown that star-like Dextran-graft –Polyacrylamide copolymers (D-g-PAA) have advantages in comparison with linear Polyacrylamide as matrices for nanosystems preparation and as nano carrier for drug delivery to tumor cells[1]. It deals with peculiarities of its internal structure which can be regulated in the synthesis process. We used this idea for preparation of hydrogels of various structure by adding of cross linker during synthesis of D-g-PAA copolymers.

Hydrogeles for biomedical application should have high swelling ability, regulated pH and can be loaded by some drugs. It was found that the swelling capacity of D-g-PAA hydrogels depends on crosslinker concentration as well as Dextran component presence. FT-IR, TGA and DSC studies of hybrid polyacrylamide hydrogels were carried out to analyse its structure.

Hydrogels were tested as wound dressings. Optical transparency of hydrogeles allowed to control the healing processes without removing the bandage and timely react by using needed care. Proposed hydrogels could keep proper moisture balance and a programmed acid-alkaline equilibrium on the wound surface. It was found, that hydrogels replaced the damaged skin and evenly protected the granulation tissue from mechanical damage and other negative environmental factors. The hydrogeles didn't allow microorganisms to pass through the dressing, that prevented secondary infection of the wound. It was proved that use of proposed hydrogeles as wound dressing accelerated the rate of epithelization, reduced the intensity of contraction of the wound, prevented abnormal proliferation and differentiation of fibroblasts and the formation of hypertrophic and colloidal scars.

1 Kutsevol, N.V., Chumachenko, V.A., Rawiso, M., Shkodich, V.F., Stoyanov, O.V. (2015) *J. Struct. Chem.*,56(5), 1016.

Single cell metabolic modelling of human placental trophoblast

A. Kostiuk¹, R. Rodriguez², Dr. I. Konovets³, Dr. M. Obolenska⁴.

¹ Kyiv Academic University, andrzejkostyuk@gmail.com

² Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, r.r.rodriguez@imbg.org.ua

³ Institute of Hydrobiology, NAS of Ukraine, ecos_inhydro@ukr.net

⁴ Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, r.r.rodriguez@imbg.org.ua

Pregnancy disorders possess a tremendous threat not only to life, health and well-being of expecting mother, but also to successful implantation, carriage and development of her upcoming child. Unfortunately, a vast selection of these disorders rely on metabolic-dependent dysfunction in triune metabolic system: mother, placenta & fetus [1]. Fortunately, these metabolic fluctuations and nutrition-dependent pathological tendencies can be assessed, estimated and tracked by proposed virtual metabolic simulation right after measuring patient's recent metabolic profile [2]. Together with precisely conducted laboratory experiments and further data verification, open-access peer-to-peer reviewed online databases (i.e. www.brenda-enzymes.info, www.ebi.ac.uk/biomodels) bring us a possibility of merging first-hand laboratory-assessed cellular physiology with already collected data within complex metabolic reconstruction and single cell simulation *in silico*. Trophoblast pathways simulation was performed in open-source software COPASI (Complex Pathway Simulator) with special attention brought to methionine cycle, folate-dependent reactions, purine synthesis and transsulfuration pathways.

Homocysteine was introduced as a key factor of trophoblast metabolic failure and a potent methylation inhibitor [3]. Metabolic modelling assessment and *in vitro* verification relied on the conducted experiment, which involved cell culture techniques, sample preparation, high performance liquid chromatography, paired with mass spectrometry. Both human placental explants from first and last pregnancy trimesters were used during cell culture stage. MCF-7 cell line was used as a follow-up experiment for concentration control and calibration. Further details on sample preparation and cell-culture techniques are provided in the following publication [4].

According to the model, increase of homocysteine concentration in trophoblasts causes gradual decline in purine synthesis, affects velocities of methyltransferases, handicaps methylation processes and overall leads to metabolic imbalance, which was inspected experimentally.

This study was carried out according to the Declaration of Helsinki. The ethics committee of the Institute of Molecular Biology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv) approved the study protocol and the use of human tissues.

1. S.C. Kalhan. (2016) One carbon metabolism in pregnancy: Impact on maternal, fetal and neonatal health, *Mol. Cell. Endocrinol.* 435 48–60.
2. A. Mardinoglu and J. Nielsen. (2012) Systems medicine and metabolic modelling, *J. Intern. Med.*, 271, 142–154.
3. O.P. Martseniuk, K.L. Romanets, M.I. Obolenska, B. Huppertz. (2009) Effect of homocysteine on the structure and functions of human placenta trophoblasts, *Ukr. Biochem. J.*, 81, 40–9.
4. R. Rodriguez, O. Vakulenko, S. Ralchenko, A. Kostiuk, L. Porublyova, I. Konovets, I. Voronina, and M. Obolenska. (2017) Quantification of S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine in human placenta and placental explants under homocysteine treatment, *Int. J. Mass Spectrom.*, 421, 279–284.

Виявлення механочутливих каналів та вивчення можливої ролі в активації скорочення одно- та мультиклітинних препаратів ГМ сечового міхура та матки щура

Насібян Л.С.¹, Соткіс А.В.¹, Дискіна Ю.Б.², Цугорка О.М.²

¹Відділ нервово-м'язової фізіології Інституту Фізіології ім. О.О. Богомольця, e-mail 1602lilit@gmail.com, anyak@biph.kiev.ua

²Лабораторія молекулярної фармакології та біофізики клітинної сигналізації Відділу нервово-м'язової фізіології ІФ ім. О.О. Богомольця, e-mail ydiskina@gmail.com, tsugorka@gmail.com

Останні роки ознаменувалися відкриттям принципово нових типів іонних каналів з неklasичними механізмами керування, перш за все такими як зміни температури та механічне напруження. Механоактивовані канали родини PIEZO – PIEZO1 і PIEZO2 залучені у регуляцію скоротливої активності гладеньких м'язів (ГМ) сечостатевої системи, які, як відомо, відзначаються значною чутливістю до термічних і механічних подразників. В наших дослідженнях ми проводили експерименти на смужках стінки сечового міхура (СМ) та поодиноких клітинах ГМ СМ і матки. Смужка стінки СМ механічно була розділена на уротелій та м'язовий шар. На сьогодні вже доведено, що уротелій є не тільки пасивним бар'єром, але й бере участь у виявленні «вхідних» фізичних та хімічних подразників, які надходять із різних джерел [2, 3, 4]. Метою експериментів було показати наявність експресії механочутливих і/або механоактивованих каналів в уротелії і м'язовому шарі СМ, а також в клітинах міометрія матки. Для цього нами був використаний метод лазерної скануючої конфокальної мікроскопії LSM 5 PASCAL (Carl Zeiss, Jena, Germany) з флуоресцентним барвником внутрішньоклітинного кальцію Fluo-4AM (Molecular probes, Invitrogen), оскільки було показано[1,5], що універсальним пусковим механізмом активації скорочення гладких м'язів є зміна концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} .

Результати нашого дослідження переконливо свідчать про наявність експресії в зразках, оскільки механічне натискання смужки тканини з кроком 50 мкм кожні 30с вздовж всієї товщини СМ скляною піпеткою діаметром 1 мм призводило до реєстрації змін кальцієвого сигналу. А в дослідах на поодиноких ГМК матки (n=5) та детрузора (n=10) щура спостерігалась відтворювана активація PIEZO-каналів та вихід кальцію з депо. Наразі ми продовжуємо вивчати детальні механізми активації цих каналів та їх можливу роль у функціонуванні досліджуваних органів в нормі та при патології.

Робота виконується в рамках фінансування НАН України, а також Цільових програм "Геном" та "Біотехнологія".

Всі експерименти на тваринах проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики

1. Lciria L. [et al.] (2011) Functional, morphological and molecular characterization of bladder dysfunction: evidence of a role for L-type voltage-operated Ca^{2+} channels. *Br. J. Pharmacol.* 163, 6, 1276- 1288.
2. Apodaca G. (2004) The uroepithelium: not just a passive barrier. *Traffic.*, 3, 117-128.
3. Birder L. (2003) Urothelial signaling. *Physiol. Rev.*, 93, 653 - 680.
4. Khandelwal P. [et al.] (2009) Cell biology and physiology of the uroepithelium . *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 297, 6, 1477-1501.
5. W. Yu, W. G. Hill, G. Apodaca [et al.] (2011) Expression and distribution of transient receptor potential (TRP) channels in bladder epithelium. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 300, 1, 49 - 59.

РОЗДІЛ 5. МЕДИЧНА ТА БІОЛОГІЧНА ІНФОРМАТИКА

Screening for potential targets of certain n,π -chelates in human cancer cells

Tymchyshyn V.B.^{1,A}, **Shelest D.V.**², **Biluk A.A.**², **Garmanchuk L.V.**^{2,B}, **Nehelia A.O.**², **Borovyk P.V.**³, **Repich H.H.**³, **Orysyk S.I.**³, **Vakal S.Y.**⁴

¹Bogolyubov Institute for Theoretical Physics, NAS of Ukraine, ²Educational and Scientific Centre "Institute of Biology," ³V.I. Vernadskii Institute of General and Inorganic Chemistry, NAS of Ukraine, ⁴The Affiliated Eye Hospital, Wenzhou Medical University, Wenzhou, China

^Ayu.binkukoku@gmail.com, ^Bliudmyla_garmanchuk@ukr.net

Motivation and importance. In current contribution we consider certain n,π -chelates of Pd (II), Pt (II) [1] and search for their possible protein targets in human cancer cell. This research was motivated by experimentally measured *large difference* in proapoptotic properties of mentioned complexes [1] — considered substances are chemically similar to cisplatin and presumably should work by the same biochemical mechanism that suggests no reason for this kind of behavior. Our assumption was that organic part of the chelates interferes with a cancer-associated protein thus impairing biochemical pathways crucial for cancer cell survival. We performed *in silico* screening for possible target proteins, found the one that matches "proapoptotic pattern" (comparing any of the complexes, simulation predicts higher ligand-receptor interaction energy for the one causing more cells to undergo apoptosis). A biochemical model was proposed to explain this phenomenon. Obtained results and proposed model may be valuable for current research in chemotherapy, provoking new ideas on how to overcome multi-drug resistance in cancer cells.

Methods. We used *inverse virtual screening* to outline possible candidates for receptors and *molecular docking* to analyze chelate-protein interaction for the most promising candidates.

Results. We screened through the base of cancer associated proteins [2] and proteins associated with metabolic detoxification (expected to be responsible for drug-resistance). We selected top-scored proteins that are expected to have the highest value of binding free energy and explored chelate-protein interaction by means of molecular docking. It seems, that the only protein following experimentally discovered "proapoptotic pattern" [1] is GGT-1 (Gamma-Glutamyl Transferase 1). Basing on this result we propose following biochemical mechanism — organic part of the complexes inhibits GGT-1 that is a crucial part of cancer cell's detox system. This allows complexes to withstand multi-drug resistance and manifests as a higher proapoptotic activity. Basing on these results we proposed modification to complexes that may make them more resistant to cancer cell's detox activities.

Conclusion. Our results suggest that it may be beneficial to search for chemotherapeutics among GGT-1 inhibitors or modify known drugs to endow them with this ability, since it may make them withstand the multi-drug resistance in cancer cells.

1. Repich, H.H., Orysyk, V.V., Palchykovska, L.G., Orysyk, S.I., Zborovskii, Y.L., Vasylenko, O.V., Storozhuk, O.V., Biluk, A.A., Nikulina, V.V., Garmanchuk, L.V. and Pekhnyo, V.I., 2017. Synthesis, spectral characterization of novel Pd (II), Pt (II) π -coordination compounds based on N-allylthioureas. Cytotoxic properties and DNA binding ability. *Journal of inorganic biochemistry*, 168, pp.98-106.
2. Lauro, G., Romano, A., Riccio, R. and Bifulco, G., 2011. Inverse virtual screening of antitumor targets: pilot study on a small database of natural bioactive compounds. *Journal of natural products*, 74(6), pp.1401-1407.

Correlation decay analysis of TRPM8 single-channel activity

Zholos A.V., Ogloblya O.V.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine, a.zholos@univ.net.ua;
olexandr.ogloblya@gmail.com

Temperature-sensitive transient receptor potential (TRP) channels play important roles in cellular signalling via altering membrane potential and calcium influx in response to changes in temperature and other stimuli of chemical nature (Venkatachalam and Montell 2007). TRPM8 ion channels have been intensively investigated as main cold neurosensors but they can also be activated by membrane depolarisation, calcium store depletion and by some lipids and other ligands, which induce cold sensation, such as menthol and icilin. Despite recent progress in studying these channels mechanisms of their activation still remain debatable. We have previously postulated a 7-state gating model of TRPM8 based on the analysis of single-channel activity (Fernandez et al. 2011). We now propose novel approach for single-ion channels analysis to elucidate correlation decay effects. One of the major benefits of our approach is that it can be used as a quick and robust test owing to its simplicity and fast numerical realisation. The idea of our analysis is to study the difference of the distribution functions describing experimental data and that predicted for the case of the absence of correlations between closed and open dwell times.

Human TRPM8 channel proteins were stably expressed in HEK293 cells grown under culture conditions and recorded using the cell-attached configuration of the patch-clamp techniques. Channels were activated at room temperature (20-23°C).

We have developed a novel mathematical approach for analysis of correlation between open and closed dwell times, using which we show strong correlation between durations of adjacent channel states in TRPM8 activity, which is present both at 20°C and 30°C. Namely, we have considered three possible events A,B,E. If sequential difference of open and closed states satisfies: 1) $\tau_2^n - \tau_1^n > t$, denote this as A-state; 2) $\tau_2^n - \tau_1^n < -t$, denote this as B-state; 3) $-t \leq \tau_2^n - \tau_1^n \leq t$, denote this as E-state. Here τ_2^n and τ_1^n are durations of closed and open states of n pairs with index n counting from the first pair ($n = 1$). The distribution functions of such events ($F_A(t), F_B(t)$) for the simple possible model with only one closed and one open conformation state have especially simple form:

$$F_A(t) = \frac{\lambda_1}{\lambda_1 + \lambda_2} e^{-\lambda_2 t}, \quad F_B(t) = \frac{\lambda_2}{\lambda_1 + \lambda_2} e^{-\lambda_1 t},$$

where λ_1, λ_2 - density of transition from first and second state respectively. These dependences on the logarithmic scale can be depicted as a straight line. As our computer simulations show for the systems with models having correlation(s), these dependences have more complex form revealing complex nature of correlations in such systems. Moreover, temperature increase apparently causes even stronger correlations between durations of adjacent channel kinetic states.

1. Fernandez, J.A., Skryma, R., Bidaux, G., Magleby, K.L., Scholfield, C.N., McGeown, J.G., Prevarskaya, N. & Zholos, A.V. (2011) Voltage- and cold-dependent gating of single TRPM8 ion channels. *J. Gen. Physiol.*, 137, (2) 173-195.
2. Venkatachalam, K. & Montell, C. (2007) TRP channels. *Annu. Rev. Biochem.*, 76, 387-417.

Моделювання просторової структури ГАМК_B рецептора, його молекулярний докінг та молекулярна динаміка з баклофеном

Науменко А.М.¹, Шаповал Л.М.², Давидовська Т.Л.¹, Нипорко О.Ю.¹, Цимбалюк О.В.¹,
Войтешенко І.С.¹, Сагач В.Ф.²

¹Інститут високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка, ganna.naumenko@gmail.com

²Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, shapoval@biph.kiev.ua

Для дослідження першої ланки активації сигнального каскаду метаботропного рецептора ГАМК_B агоністом баклофеном з використанням біоінформатичних інструментів проведено реконструкцію просторової структури даного рецептора шляхом постадійного моделювання окремих частин його субодиниць. Також за допомогою методів молекулярного докінгу та молекулярної динаміки здійснено пошук та аналіз сайтів зв'язування баклофену з екстрацелюлярною частиною субодиниці ГАМК_{B1a}.

Одержані нами екстрацелюлярні модулі кожної з субодиниць рецептора ГАМК_B складаються з двох доменів та містять β -елементи, що послідовно чергуються з α -спіралями та з'єднані трьома короткими петлями. На N-кінці субодиниці ГАМК_{B1a} розташовуються два комплементарні білкові модулі, що складаються з невеликих антипаралельних β -листів. Трансмембранний модуль кожної з субодиниць рецептора містить сім α -спіралей, послідовно з'єднаних екстрацелюлярними та інтрацелюлярними петлями. В роботі також реконструйовано моделі просторової структури інтрацелюлярного модуля рецептора ГАМК_B, що бере участь в утворенні надспіралізованої структури та відповідає за гетеродимеризацію субодиниць. Розрахунки молекулярної динаміки повнорозмірного ГАМК_B-рецептора у комплексі з біологічною мембраною показали тенденцію C-кінцевих доменів рецептора до компактизації після 18 нс динаміки та їх наближення до мембрани, а після 36 нс між екстрацелюлярними доменами ГАМК_{B1} та ГАМК_{B2} відбулось утворення контактної інтерфейсу. Аналіз результатів молекулярного докінгу показав, що крім сайту зв'язування в «клевнях», баклофен може зв'язуватись також у сайтах відмінних від ортостеричного. Використовуючи метод молекулярної динаміки, було встановлено два сайти, в яких баклофен з амінокислотами зв'язувався стабільно та утримувався впродовж всього часу динаміки (100 нс): це сайт в «клевнях» та сайт, розташований на протилежній стороні від щілини між доменами LB1 та LB2 (сайт «під клефнями»). Розрахунки вільної енергії взаємодії ліганду та рецептора для кожного з сайтів становили (-45,2525) кДж/моль та (-91,5005) кДж/моль, відповідно, що вказує на те, що в останньому баклофен буде утримуватись більш стабільно. Встановлено також, що до складу сайту «під клефнями» входить 11 амінокислотних залишків, структурованих у три групи: перша група амінокислот: Lys154, Pro155, His156, Cys157; друга група амінокислот: Lys483, Thr484, Gly487; третя група амінокислот: Gln508, Arg511, Ala512, Ser515. До складу сайту зв'язування «в клефнях» увійшло 9 амінокислотних залишків. На відміну від сайту «під клефнями», він не має чіткої структурованості на угруповання та не містить полярні заряджені амінокислотні залишки, але до його складу входять амінокислотні залишки, що містять ароматичне кільце: Trp182; Phe319; Tyr367; Trp395. Проведена оцінка водневих зв'язків по Еспінозі, показала, що їх кількість для сайтів зв'язування баклофену з ГАМК_B рецептором як «під клефнями», так і в «клевнях», була майже однаковою. Проте сумарна енергія цих зв'язків відрізнялась майже у 2,5 рази: 21.588272 ккал/моль – в «клевнях» та 8.859215 ккал/моль – «під клефнями». Одержані результати свідчать про те, що у зв'язування баклофену в «клевнях» значний внесок мають водневі зв'язки, тоді як «під клефнями» ключову роль відіграють інші типи зв'язків.

Моделювання електричної активності та кальцієвої динаміки гладеньком'язових клітин детрузора людини

Бігоцька О.І.

КНУ ім. Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», кафедра біофізики та медичної інформатики, olgabigotska@knu.ua

Велика кількість експериментальних і клінічних даних, вказують на зв'язок між аномальною електричною активністю ГМК та розладами роботи сечового міхура. Незважаючи на це, причинно-наслідковий зв'язок наразі недостатньо вивчений. Це може призводити, зокрема, до неминучих труднощів в оцінці наслідків цих аномалій. Обчислювальні моделі можуть бути використані для подолання цієї відсутньої ланки. В цьому випадку можна змінити опис одного типу іонних каналів (наприклад, що імітує мутацію) і отримати передбачення поведінки клітин [1, 2]. Метою дослідження було: створити модель електричної активності гладеньком'язової клітини сечового міхура, яка буде здатна відтворювати її основні електрофізіологічні властивості. Завдання: порівняти результати моделювання електричної активності гладеньком'язової клітини з експериментальними даними задля підтвердження істинності отриманої моделі.

В роботі були використані кінетичні моделі йонних каналів та транспортерів: кальцієвого каналу L – типу, калієвого потенціал залежного каналу KV типу, BK – калієвого каналу, DR (delayed rectifier) калієвого каналу та Ca^{2+} - АТФази плазмолемі (PMCA) та Ca^{2+} - АТФаза саркоплазматичного ретикулуму. Моделювання проводилось з використанням мови програмування Python 3.6. Як середовище програмування використовувалось програмне забезпечення Active State Komodo IDE 8. Для аналізу, обробки та відображення результатів моделювання використовувались розширення NumPy та бібліотека Matplotlib. Система диференціальних рівнянь, що описувала електричну активність гладеньком'язової клітини, була обчислена методом Ейлера за рахунок ітерації по часовим проміжкам. Приросту часу (часовий крок – dt) величиною 0.025 мс було достатнього для стабільності моделі та задовільного відхилення від експериментально отриманих даних.

На моделі було продемонстровано кінетику окремих іонних каналів у режимі фіксації потенціалу та при зміні внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. Також було показано здатність моделі всієї клітини генерувати поодинокі потенціали дії (ПД), серії ПД та генерацію фази плато у відповідь на короткочасну стимуляцію струмом, довготривалу низькоамплітудну (120 пА, 500 мс) та довготривалу високоамплітудну (200 пА, 500 мс) стимуляції відповідно.

Модель була здатна відображати кінетику окремих йонних струмів, генерацію клітиною потенціалів дії та кальцієву динаміку клітини, що добре співвідносилось з експериментальними даними [2, 3].

1. Rosenberg J., Byrtus M. and Stengl M., (2016) Combined model of bladder detrusor smooth muscle and interstitial cells. *Experimental Biology and Medicine*, 241, 1853–1864.
2. Mahapatra C., Brain K., and Manchanda R., (2018). A biophysically constrained computational model of the action potential of mouse urinary bladder smooth muscle. *PLOS ONE*, 13, 1-32.
3. Sui G., Wu C. and Fry H., (2001). The electrophysiological properties of cultured and freshly isolated detrusor smooth muscle cells. *The journal of urology*, 165, 627-632.

РОЗДІЛ 6. ДІЯ ФІЗИЧНИХ ТА ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ НА ЖИВІ СИСТЕМИ

Механочутливість гладеньких м'якоцитів детрузора щура

Єльяшов С.І.¹, Шаропов Б.Р.¹, Соткіс Г.В.¹, Цугорка О.М.¹, Шуба Я.М.¹

¹Інститут фізіології імені академіка О.О. Богомольця НАН України, вул. Академіка Богомольця 4, м.Київ, 01024, Україна. e-mail: semenyelash@gmail.com

Механічна чутливість - це одна з основних сенсорних модальностей організму, що забезпечує орієнтування в просторі, відчуття вібрацій, дотику, пропріоцепції, регуляцію багатьох внутрішніх процесів в організмі, таких як перетікання рідин, набряки та розтягнення тканин. З кінця 80-х років фізіологи почали досліджувати молекулярні механізми механочутливості. Corey та Hudspeth висловили теорію, що можуть існувати специфічні йонні канали, котрі активуються у відповідь на механічне подразнення [1]. З того часу було відкрито більш ніж 7 родин механочутливих йонних каналів. Одним з вісцеральних органів, в регуляції роботи якого може бути залучена механочутливість, є сечовий міхур. В літературі існують дані, отримані методами гістохімії та PCR, згідно з якими кілька механочутливих каналів експресовані в сечовому міхурі щурів, а саме Piezo1 та TRPV1 [2,3] в уротеліальному шарі, а також, можливо, в м'язовому (детрузорі). Метою нашої роботи було встановити функціональними методами здатність детрузора сприймати механічні подразнення, за що можуть бути відповідальними механочутливі канали.

Механічну чутливість вивчали на смужках сечового міхура щурів та на гладеньких м'якоцитах детрузора (ГМД), ізольованих колагеназою II типу з *Clostridium histolyticum*. Стимуляцію механочутливості проводили трьома методами: на смужках - розтягуванням, на ГМД - натиском скляною піпеткою та гідродинамічним тиском. Результати фіксували кальцієвою візуалізацією з флуоресцентним барвником Fluo-3AM та patch-clamp в конфігурації "ціла клітина". Для дослідження чутливості до розтягнення смужку міхура навантажували флуоресцентним барвником та фіксували смужку за обидва кінці. Розтягнення проводили в 2 етапи, на 10 та 20% (1 та 2 мм). Спостерігали зростання інтенсивності флуоресценції (F/F_0) на 82%. Також фіксували флуоресцентну відповідь на ізольованому ГМД під час натискання (1-5 мкм, починаючи з моменту доторку до мембрани), F/F_0 становила понад 114%. На ГМД також провели дослідження активації гідродинамічним тиском з швидкістю подачі розчину в 5 мкл/с та фіксували трансмембранні струми за допомогою patch-clamp. Однак на цей тип стимуляції відповідь не зареєстрували.

Отримані дані підтверджують роль м'язового шару сечового міхура в механочутливості на рівні з уротеліальним шаром та аксонами аферентних нейронів. Крім цього, ГМД не сприймає механічні подразнення по типу гідродинамічного тиску, але відповідає на натискання та розтягнення.

Всі експерименти проводились з дотриманням вимог чинного законодавства України, норм біоетики стосовно роботи з лабораторними тваринами та з дотриманням Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних цілей від 16 березня 1986-го року, Страсбург.

1. Volkers L, Mechoukhi Y, Coste B. (2015) Piezo channels : from structure to function. *Pflugers Arch*, 467(1):95-9;
2. Michishita M, Yano K, Tomita K, Matsuzaki O, Kasahara K. (2016) Piezo1 expression increases in rat bladder after partial bladder outlet obstruction. *Life Sci*, 166:1-7.
3. Zhao R, Tsang SY, Kong H, Kong H, Tsang SY, Man M, et al. (2016) Versatile Roles of Intracellularly Located TRPV1 Channel †. *Journal of Cellular Physiology*, 1-46.

Дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію на показники прооксидантно-антиоксидантного стану різних органів птиці*Гарасим Н.П., Боднарчук Н.О., Санагурський Д.І.*

Львівський національний університет імені Івана Франка, garasymnataly@gmail.com

В медицині як дезінтоксикант використовують гіпохлорит натрію (ГХН). Його застосовують для знезараження водопровідної води [1]. Проте залишається невивченим вплив ГХН на здоровий організм. Дослідження проводили на птиці. Тварин розділили на 3 групи. Першій групі згодовували повноцінний корм і випоювали воду. Тваринам 2-ї і 3-ї груп 14 діб випоювали розчин ГХН у дозі 5 і 10 мг/л. Після 14-ї доби по 5 тварин з кожної групи залишали на реабілітацію. На 7, 14 та 20 доби досліду по 5 тварин з 1-ї, 2-ї та 3-ї групи декапітували під легким ефірним наркозом згідно з “Загальними принципами роботи на тваринах”, затвердженими І Національним конгресом по біоетиці (Київ, Україна, 2001); видаляли легені, печінку, селезінку, нирку, серце. Для вивчення дії ГХН на сім'яники до експерименту були залучені півники. В зразках визначали вміст ТБК-позитивних продуктів, супероксиддисмутазу (СОД), каталазу (КАТ), глутатіонпероксидазу (ГПО) активність. Проводили однофакторний дисперсійний аналіз. Досліджуваным фактором впливу на вміст продуктів ліпопероксидації і активність ензимів антиоксидантної системи був ГХН. Відомо, що цей аналіз дозволяє обрахувати частку впливу екзогенного чинника і частку впливу неврахованих факторів. Встановлено значну частку впливу ГХН на процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у сім'яниках (81 %), селезінці (95 %), печінці (79 %) птиці. Це свідчить про пряму дію дезінтоксиканта на вміст ТБК-позитивних продуктів. Селезінка і печінка є депо крові. У селезінці знешкоджуються еритроцити і відбувається вивільнення з них іонів Fe, які взаємодіють ймовірно з ClO^- за реакцією Осипова. В такій реакції утворюється гідроксильний радикал, який є найбільш реакційноздатним і «шкідливим» активним кисневим метаболітом [3]. Цей радикал зумовлює інтенсифікацію процесів ПОЛ. Селезінка і печінка є потенційними носіями великих кількостей іонів Fe, який є причиною ушкодження гіпохлоритом натрію тканин цих органів. Частка впливу ГХН на вміст ТБК-позитивних продуктів у нирках і легенях є нижчою і становить 44 і 42 %, що свідчить про опосередковану дію чинника на цей показник. Відомо, що кінцевий етап обміну речовин полягає у виділенні з організму продуктів обміну через нирки, легені, потові залози і шлунково-кишковий тракт [2]. Тому, ймовірно, шкідливу дію на прооксидантний стан нирок і легень чинять метаболіти ГХН, які утворюються в організмі. Найменш чутливим до дії ГХН є серце птиці (18 %). Потужний вплив ГХН на активність СОД встановлено у селезінці, печінці, легенях, де частка дії становить 52, 71 і 53 %. Проте, значний вплив дезінтоксиканта виявлено і на роботу фермента у сім'яниках (32 %), нирках (49 %), серці (43 %). Отже, ГХН прямо впливає на активність СОД у організмі птиці. Нами встановлено, що у легенях, серці та нирках птиці на КАТ активність потужну дію чинить ГХН, частка впливу якого становить 77, 50 і 56 % відповідно. Найменший вклад ГХН чинить на роботу КАТ у сім'яниках птиці (6 %). Ймовірно, у сім'яниках зміни роботи КАТ пов'язані з впливом метаболітів ГХН. Посередня дія ГХН на активність ГПО виявлена у сім'яниках, селезінці та нирках птиці (49, 44 %, 35 %). Менша частка впливу є у печінці (23 %) та легенях (23 %). Це свідчить про опосередковану дію ГХН на ГПО. Ймовірно структура ферменту не ушкоджується гіпохлоритом натрію.

1. Lebedev, A. T., Shaydullina, G. M., Sinikova, N. A., Harchevnikova, N. V. (2004) GC–MS comparison of the behavior of chlorine and sodium hypochlorite towards organic compounds dissolved in water. *Water Research.*, 38, 3713-3718.
2. Коваль, Т. В. (2016) Біохімія тварин. *Кам'янець-Подільський: Видавець ПП Зволейко Д.Г.*, 440.
3. Меньщикова, Е. Б. (2006) Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма «Слово», 556.

Біофізичні методи оцінки протизапальної активності екстрактів плаценти людини

Нароژний С.В., Боброва О.М., Нардід О.А., Розанова К.Д., Рєпіна С.В., Говорова Ю.С., Щетинський М.І.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАНУ, відділ кріобіофізики, stas.narozhnyi@gmail.com

Водно-сольові екстракти плаценти людини (ЕПЛ) широко використовуються у медицині [1]. Незважаючи на це тривають експериментальні і клінічні дослідження терапевтичної ефективності ЕПЛ по відношенню до різних патологій, включаючи запальні захворювання, остеоартрити, хронічні болі, ішемічне пошкодження мозку, пошкодження печінки та ін. Серед різних властивостей екстрактів плаценти дослідники особливо відзначають їх виражену протизапальну активність [2]. Одним із суттєвих недоліків ЕПЛ є нетривалий час їх зберігання при гіпотермічних температурах (4°C). А вплив низькотемпературної обробки плаценти на протизапальну активність її екстрактів на даний час не вивчено.

МЕТА: вивчити вплив охолодження плаценти до -20°C з наступним відігріванням на протизапальну активність її водно-сольових екстрактів та їх окремих фракцій.

МЕТОДИ: У роботі використовували екстракти отримані із плацент охолоджених до -20°C з наступним відігріванням.

Протизапальну активність оцінювали за здатністю ЕПЛ та їх фракцій підвищувати термостійкість еритроцитів[3] і знижувати АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів [4].

Термостабільність еритроцитів оцінювали після попередньої обробки еритроцитів екстрактами або їх фракціями за рівнем термогемолізу (спектрофотометричний метод), температурами і теплотами денатурації мембранозв'язаних білків (метод диференціальної скануючої калориметрії), динамічним станом цитозолу і бар'єрною функцією мембран при гіпертермії (метод ЕПР спінових зондів). Ступінь АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів оцінювали за рівнем мутності, який визначали за показником світлорозсіювання (спектрофотометричний метод). Показано, що найбільш ефективно знижують термогемоліз еритроцитів низькомолекулярні фракції <4 кДа і 7-13 кДа. Найбільший процент інгібування агрегації тромбоцитів зареєстровано в присутності фракції <4 кДа. Фракції середньомолекулярні (45-75 кДа) і високомолекулярні (>150 кДа) мають низьку здатність пригнічувати термогемоліз. Виявлено, що низькомолекулярні фракції викликають зміщення температур піків денатурації мембранозв'язаних білків в область високих температур, що свідчить про підвищення їх термостабільності. Вплив ЕПЛ на структурно-динамічний стан цитозолу проявляється в зміні термоіндукованої поведінки еритроцитів в області +(40-50)°C, тобто в області, де відбуваються термоструктурні перебудови, в які залучаються цитоскелетні білки. Отриманні данні свідчать про те, що імовірно фракції <4 кДа і 7-13 кДа містяться компоненті ЕПЛ, які мають протизапальну ефективність.

ВИСНОВКИ: Охолодження плаценти до -20°C з наступним відігріванням, не впливає на протизапальні властивості її водно-сольових екстрактів і їх фракцій.

1. Chakraborty, P.D., Bhattacharyya, D. (2012) "Aqueous Extract of Human Placenta as a Therapeutic Agent", Recent Advances in Research on the Human Placenta, Croatia: InTech, Rijeka, pp.77-92. (in English).
2. Kawakatsu, M., Urata, Y., Goto, S., Ono, Y. & Li, T. (2012) Placental extract protects bone marrow-derived stem/progenitor cells against radiation injury through anti-inflammatory activity. *Journal of Radiation Research*, 54(2), pp.268-276.
3. Bougandoura, A., D'Abrosca, B., Ameddah, S., Scognamiglio, M., Mekkiou, R., Fiorentino, A., Benayache, S. & Benayache, F. (2016) Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of *Cistanche violacea* Desf. (Orobanchaceae) extract. *Fitoterapia*, 109, pp.248-253.
4. Alkadi, K., Adam, A., Taha, M., Hasan, M. & Shah, A. S. (2013) Antiplatelet Aggregation Activity of 5-Hydroxyflavone, 2-Hydroxyflavanone, Paeonol and Bergenin Isolated from Stem Bark of *Garcinia malaccensis* in Human Whole Blood. *Oriental Journal Of Chemistry*, 29(03), pp.871-875.

Вміст ТБК-позитивних продуктів у зародках в'юна за впливу електромагнітного випромінювання

Семочко О. М.¹, Яремчук М.М.¹, Генега А. Б.¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, olenkayu@gmail.com

У зв'язку із збільшенням «електромагнітного забруднення» навколишнього середовища, привертає увагу проблема впливу електромагнітних полів на біологічні об'єкти. Внаслідок довготривалого та інтенсивного використання мобільного зв'язку виявлено достовірне зростання ризиків розвитку гліом, менінгіом, невриноом слухового нерву, пухлин білявушних слинних залоз, головного болю, відчуття фізичного дискомфорту у людей [3]. Електромагнітне випромінювання (ЕМВ) є потужним окисативним стрес-фактором для живої клітини [1, 2, 4]. Відомо, що найбільш чутливими до впливу мікрохвильового випромінювання є ембріональні об'єкти. Метою дослідження було вивчити вплив ЕМВ радіочастотного діапазону (1850 МГц) на інтенсивність процесів ліпопероксидації зародків в'юна (*Misgurnus fossilis* L.).

Яйцеклітини в'юна отримували за методом А. Нейфаха. Як джерело електромагнітних хвиль 1850 МГц використовували генератор ЕМВ, який був розроблений вченими Харківського університету (Шкорбатов Ю. Г., 2014). Зародки піддавали одноразовому опроміненню відразу після запліднення на відстані 15 см при густині потоку електромагнітної енергії 0,00197 мкВт/см² протягом 5 хвилин.

У відібраних зразках визначали інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-позитивних продуктів) за методом Тимирбулатова. Концентрацію білка в кожному зразку визначали за методом Лоурі. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програми "Excel-2010" для Windows. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох експериментальних даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента.

Встановлено, що за дії ЕМВ радіочастотного діапазону тривалістю 5 хв спостерігається зміна вмісту продуктів ПОЛ на ранніх етапах розвитку зародків. На стадії розвитку 2 бластомерів зародків в'юна вміст ТБК-позитивних продуктів за впливу ЕМВ РЧ діапазону протягом 5 хв зростає на $16,5 \pm 3,5$ %, щодо контролю, що відповідає $0,72 \pm 0,02$ мкмоль/мг білка. Однак, на стадії 16 бластомерів ЕМВ такої ж тривалості не викликає достовірних змін досліджуваного показника. На стадіях розвитку 64, 256 та 1024 бластомерів після опромінення генератором ЕМВ протягом 5 хв вміст вторинних продуктів ПОЛ достовірно знижується, порівняно з контролем на $26 \pm 5,9$ %, $21,2 \pm 6,6$ % та $31,4 \pm 2,8$ % відповідно, що становить $0,65 \pm 0,03$, $0,54 \pm 0,02$, $0,73 \pm 0,02$ мкмоль/мг білка.

Отже, вплив ЕМВ низької інтенсивності (1850 МГц) призводить до порушення процесів ліпопероксидації, про що свідчить зміна вмісту ТБК-позитивних продуктів. Дія ЕМВ на клітину опосередковується запуском процесів ПОЛ.

1. Семочко О. М. та ін. (2011) Вплив випромінювання синього та зеленого спектра на процеси ліпопероксидації зародків в'юна. Фізика живого, 19, 24-30.
2. Яремчук М. М., Дика М. В., Санагурський Д. І. (2014) Процеси ліпопероксидації зародків в'юна за впливу мікрохвильового випромінювання. Вісн. Львів. ун-ту, 64, 82-89.
3. Яремчук М. М. (2014) Вплив електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону на біологічні об'єкти. Вісн. Львів. ун-ту, 65, 34-49.
4. Yakymenko I. et al (2016) Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. Electromagn Biol Med., 35(2), 186-202.

Short-term hypoxia differentially affects excitatory and inhibitory retinocollicular synaptic transmission

Dumanska H.V.¹, Veselovsky N.S.

¹Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Department of Neuronal Networks Physiology, Kyiv, Ukraine, Doomannya@gmail.com.

The visual system is extremely sensitive to hypoxia due to its energy demands. Lesions of the visual system as a result of injuries, toxicities, degenerative and inflammatory processes, metabolic and cardiovascular diseases or even states of physiological adaptation are often mediated or accompanied by short- or long-term hypoxia [3; 4]. Retinocollicular projections form the initial level of visual signal transmission from the retina to the subcortical visual center (superior colliculus). Structural and functional responses to hypoxic injury in retinocollicular projections were demonstrated using functional magnetic resonance imaging [1; 2]. Whereas, hypoxia-induced effects on this synaptic transmission were not previously investigated. Short-term duration of hypoxia permits investigation of the prepathological state that foregoes irreversible hypoxic injury and cell death.

In the present study we investigated the effects of hypoxia on retinocollicular neurotransmission in individual pairs of rat retinal ganglion cell (RGC) – SSC neuron using the paired whole-cell patch-clamp technique. All experimental animals (Wistar rats, one-day old, both sexes) were decapitated in accordance with animal researchers regulations approved by the Ukrainian Academy of Science and with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes - Explanatory Report, 1986; World Medical Association Declaration of Helsinki, 1996; Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine: Convention on Human Rights and Biomedicine, 1997.

Using the paired patch-clamp technique, we studied the effects of short-term hypoxia on retinocollicular synaptic transmission in an originally-developed coculture of dissociated retinal cells and superficial superior colliculus (SSC) neurons. Pharmacologically isolated N-methyl-D-aspartate receptor (NMDA)–, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor (AMPA)– and gamma-aminobutyric acid receptor GABA_A–mediated postsynaptic currents (PSCs) were evoked in SSC neurons by generation action potentials in presynaptic retinal ganglion cells. Spontaneous and miniature PSCs were recorded in SSC neurons in the absence of presynaptic stimulation. Short-term (up to 5 min) hypoxia induced long-term potentiation of NMDA transmission, long-term depression of GABA_A neurotransmission and temporary suppression of AMPA transmission. Also, we observed hypoxia-induced reduction of voltage-dependent magnesium blockade of evoked NMDA response. Evoked, spontaneous and miniature postsynaptic currents were analyzed in terms of a binomial model. This analysis revealed that hypoxia acts mainly presynaptically on excitatory neurotransmission and both pre– and postsynaptically on inhibitory retinocollicular transmission.

Thus, we showed for the first time hypoxia-induced bidirectional long-term plasticity of the retinocollicular synaptic transmission. The results obtained reflect the electrophysiological basis of hypoxia-involved pathological lesion of the retinocollicular pathway.

1. Chan, K.C., Kancharla, S., Fan, S.J., Wu, S., 2015. Long-term effects of neonatal hypoxia-ischemia on structural and physiological integrity of the eye and visual pathway by multimodal MRI. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 56, 1–9.
2. Duong, T.Q., 2014. Magnetic resonance imaging of the retina: from mice to men. *Magn. Reson. Med.* 71, 1526–1530.
3. Dutton, G.N., McKillop, E.C.A., Saidkasimova, A., 2006. Visual problems as a result of brain damage in children. *Br. J. Ophthalmol.* 90, 932–933.
4. Wu, G.F., Parker Harp, C.R., Shindler, K.S., 2015. Optic Neuritis: a model for the immuno-pathogenesis of central nervous system inflammatory demyelinating diseases. *Curr. Immunol. Rev.* 11(2), 85–92.

Калікс[4]аренхалконаміди – модулятори середнього гідродинамічного діаметру мітохондрій

¹Силенко А.В., ¹Шликов С.Г., ¹Кушнар'ова-Вакал А.М., ¹Бабіч Л.Г., ²Єсипенко О.А., ¹Чуніхін О.Ю., ²Кальченко В.І., ¹Костерін С.О.

¹Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ, Україна 01030

²Інститут органічної хімії НАН України, вул. Мурманська, 5, Київ-94, Україна 02660, sylenkoanna@ukr.net (A.V. Sylenko), sshykov@biochem.kiev.ua (S.G. Shlykov), anastasiyakushnarova@gmail.com (A.M. Kushnarova-Vakal), babich@biochem.kiev.ua (L.G. Babich), alchun@ukr.net (O.Yu. Chunikhin), esipenko@ioch.kiev.ua (O.A. Yesypenko), kinet@biochem.kiev.ua (S.O. Kosterin).

Мітохондрії відіграють значну роль у широкому спектрі життєво важливих функцій клітини, таких як Ca^{2+} -сигналювання, апоптоз, адаптація до стресу, стероїдогенез та старіння. З іншого боку, активність мітохондрій безпосередньо впливає на їх структуру та розміри. В умовах експерименту *in vitro* середній гідродинамічний діаметр мітохондрій є одним з тих параметрів, які дозволяють тестувати зміни функціональної активності цих органел.

Каліксарени – це макроциклічні молекули з унікальною тривимірною структурою, які можна функціоналізувати різними хімічними групами по верхньому або нижньому вінцю. До таких угруповань належать, зокрема, халкони - ароматичні кетони, представники класу флавоноїдів, яким властивий широкий спектр біологічної активності.

Метою цього дослідження було проаналізувати вплив калікс[4]аренхалконамідів на середній гідродинамічний діаметр мітохондрій міометрія.

Калікс[4]аренхалконаміди синтезували з відповідних етилових естерів за такою загальною схемою: спочатку естери гідролізували в лужному середовищі до карбонових кислот, далі реакцією з хлористим оксалілом в сухому хлороформі кислоти переводили в хлорангідриди, і взаємодією останніх з 4'-амінохалконом в присутності триетиламіну одержували цільові калікс[4]аренхалконаміди. Досліджувались калікс[4]арени, які містять дві (С-1012 та С-1021), три (С-1023 та С-1024) та чотири (С-1011) халконові групи. Ізольовані мітохондрії одержували з міометрія невагітних щурів за допомогою методу диференціального центрифугування. Функцію розподілу мітохондрій за розміром визначали методом фотонної кореляційної спектроскопії за допомогою лазерного кореляційного спектрометру Malvern Instruments "ZetaSizer-3" (Великобританія), обладнаного He-Ne лазером ЛГН-111 (потужність $P = 25$ мВт, $\lambda = 633$ нм). Встановлено, що інкубація мітохондрій протягом 5 хвилин у присутності калікс[4]аренхалконамідів веде до зміни гідродинамічного діаметру мітохондрій: інкубація з С-1012, С-1021, С-1023 супроводжується зменшенням середнього гідродинамічного діаметру, тоді як інкубація з С-1011 – збільшенням цього параметра, що може бути ознакою деполіризації внутрішньої мембрани цих органел.

Таким чином, був встановлений факт модулюючого впливу калікс[4]аренхалконамідів на розмір мітохондрій, що стане у нагоді при вивченні шляхів знешкодження небажаних клітин.

Вплив енергетичних напоїв на поведінкові реакції тварин

Федірко Н.В.¹, Сікорська А.О.

¹ Львівський національний університет ім. Івана Франка, n_fedirko@yahoo.co.uk

Всі енергетики мають збудливу дію на організм людини, це основна властивість, заради якої і були винайдені ці напої. Нашим завданням було дослідити вплив нових енергетичних напоїв, які зараз є поширенні на європейському ринку.

Мета досліджень полягала у тому, щоб з'ясувати вплив енергетичних напоїв «Tiger» та «Crazy wolf» на пам'ять та поведінку щурів з використанням радіального лабіринту.

Піддослідних тварин утримували в стандартних умовах віварію при постійній температурі та циклі світла-темряви на основному збалансованому раціоні. Щурів поділяли на 2 групи: контрольну, яка споживала звичайну питну воду, та дослідну, які пили 1% розчин енергетику. Усі маніпуляції з тваринами проводились згідно з Міжнародною Конвенцією роботи з тваринами та Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження».

В даній роботі використовували радіальний лабіринт, який має 8 рукавів, які відходять від центру. Тестування тварини починається у центрі радіального лабіринту. Перший раз, ми впускаємо щурів, щоб вони ознайомились з територією. Після цього ми запускаємо щура і він повинен знайти вихід з лабіринту. Вихід є тільки один. Наступного разу, ми закриваємо вихід, який він вибрав і він шукає новий вихід з лабіринту.

Час проходження лабіринту при 1-му впусканні у досліді зменшився протягом перших 5 днів, порівняно з 2-м впусканням. Але після 5 дня показники підвищуються, а показники «Crazy wolf» навпаки різко зменшуються, причиною цього є більший вміст вітамінів B₆ і B₁₂ (які сприяють підвищенню концентрації, уваги та працездатності).

Кількість випорожнень між дослідними групами починає істотно змінюватись після 5 дня досліду, причиною цього на нашу думку є те, що у складі енергетичного напою «Tiger» міститься глюконат цинку, який має здатність покращувати пам'ять, а оскільки раціон харчування щурів включав злакові, у складі яких міститься фітинова кислота, що перешкоджала засвоєнню цинку, внаслідок чого мікроелемент виводився з організму щурів у великій кількості.

Протягом проведення дослідження, максимальні зміни при вживанні енергетичних напоїв спостерігались на 10 день досліду.

Отже, протягом 15 днів вживання енергетичних напоїв – спостерігається звикання організму до енергетиків, що призводить до зростання часу проходження лабіринтом, тобто щурі перебувають не в такому активному стані, як у перші дні, показники активу грумінгу продовжують зростати, а випорожнень і вертикальної активності при вживанні «Crazy wolf» є дещо більшими, через більшу кількість у складі напою кофеїну. Тим самим підтверджується, що часте вживання енергетичного напою призводить до виснаження нервової системи та послаблення м'язової активності.

Гепаран-сульфат- та гіалуронат-зв'язувальна активність білків у субклітинних компартментах мозку щурів за умов гострого комбінованого іммобілізаційного стресу

Ушакова Г.О., Бабець Я.В., Довбань О.О.

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, e-mail ushakova_g@ukr.net, kristalxx@yandex.ru, dovbanelena@gmail.com

Для визначення послідовності біомолекулярних подій, які у свою чергу безпосередньо впливають на процеси клітинного рівня, серед інших інформаційних інструментів природа має унікальну систему сигналізації за рахунок варіації вуглеводних залишків, та/або їх модифікацій. Розуміння їх функціональної значимості може стати ключем до розуміння як фізіологічних, так і патохімічних молекулярних механізмів, які відбуваються в живій клітині. Позаклітинний матрикс у нервовій тканині представлений широким спектром глікопротеїнів і протеогліканів, спільна дія яких важлива для створення складного та динамічного середовища. Надмембранні та внутрішньоклітинні глікозаміноглікани задіяні у клітино-клітинних і клітинно-матриксних взаємодіях, адгезії поверхневих цитоструктур, передачі сигналу та впізнаванні у комплексі хазяїн-патоген [1]. Біологічна активність цих полісахаридів регулюється їх взаємодією з протеїнами. Метою даного дослідження було визначення гепаран-сульфат- та гіалуронат-зв'язувальної активності білків у субклітинних компартментах у різних відділах мозку щурів за умов гострого комбінованого іммобілізаційного стресу. Для експерименту 18 щурів лінії Вістар були розділені на три групи (n=6).

У 1 групі (контроль) були інтактні щури. 2 група перебувала під іммобілізаційним стресом протягом 3 днів із водними та світловими стресовими факторами, у 3 групі застосовували описану модель стресу та вводили 2-оксоглутарат (2-ОГ) протягом 14 днів після стресової індукції в дозі 0,8 г/кг ваги тіла. Експеримент був проведений відповідно до дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики. З різних відділів мозку дослідних тварин були отримані субклітинні фракції протеїнів (цитозольна, мембранна, цитоскелетна) за рахунок диференційного ультрацентрифугування. В отриманих фракціях проводили визначення гепаран-сульфат- та гіалуронат-зв'язувальної активності протеїнів за допомогою вуглевод-ферментного твердофазного аналізу [2]. Вірогідними вважали дані при $P < 0,05$. Отримані експериментальні дані вказують на те, що активність зв'язування гіалуроната та гепаран-сульфата специфічними протеїнами у мозку щурів за умов стресу сильно відрізняється. За умов комбінованої іммобілізації тварин протягом 3 діб не встановлено вірогідної зміни гіалуронат-зв'язувальної властивості дослідних протеїнів у всіх субклітинних компартментах порівняно з контрольними тваринами. Проте, рівень гепаран-сульфат-зв'язувальної активності протеїнів у цитозольній фракції, отриманої з мозочка стресованих щурів був нижче на 40 % ($P < 0,001$) у порівнянні з контрольною групою. При цьому загальний пул протеїнів у дослідних фракціях не був значимо змінений. Застосування 2-оксоглутарату в дозі 0,8 г/кг ваги тіла у питній воді протягом 14 днів стимулювало швидше відновлення балансу між кількістю протеїнів та їх властивістю до зв'язування специфічних глікозаміногліканів.

Дослідження проведені в рамках держбюджетної теми 0116U001521

1. Smock R. G. & Meijers R. (2018) Roles of glycosaminoglycans as regulators of ligand/receptor complexes, *Open Biol.*, 8(10). pii: 180026. doi: 10.1098/rsob.180026.
2. Dolzhenko M. I, Lepekhin E. A. & Berezin V. A. (1994) A novel method for evaluation of carbohydrate-binding activity: enzyme-linked carbohydrate-binding assay (ELCBA), *Biochem Mol Biol Int.*, 34(2), 261-271.

Особливості стресової реакції клітин букального епітелію людини на дію нейтронного випромінювання

Кузнецов К.А.¹, Бережний А.Ю.², Кизим П.С.², Щусь О.Ф.², Оніщенко Г.М.², Шкорбатов Ю.Г.²

¹Харківський національний медичний університет, Konst.Kuznets@gmail.com

²Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, yuriy.shckorbatov@gmail.com

Одним з найнебезпечніших видів іонізуючого випромінювання є нейтрони. В залежності від своєї енергії вони можуть у 2–20 разів перевищувати вражаючу здатність рентгенівського та гамма-випромінювання (Вірхов та ін., 1978, с. 16–30). Метою даної роботи був аналіз виявленої раніше (Кузнецов та ін., 2016, с. 88–89) залежності конденсації хроматину в ядрах клітин людини (як загальної характеристики клітинного стресу) від дози нейтронного випромінювання на прикладі кількох донорів. Дослідження проводились на клітинах букального епітелію людини за методикою (Кузнецов та ін., 2015, с. 83). Оцінювалась ступінь конденсації хроматину в 100 ядрах клітин 3 донорів чоловічої статі (Рис. 1) за показником вмісту гранул гетерохроматину (ВГГ).

Згідно отриманих даних, збільшення дози нейтронного випромінювання до 36,5 мЗв призвело до зростання показника ВГГ в клітинах усіх донорів, тоді як подальше зростання повернуло показник ВГГ до контрольного рівня. У випадку з донором А (20 років) ступінь конденсації хроматину при застосування максимальної дози виявилась нижчою за контроль.

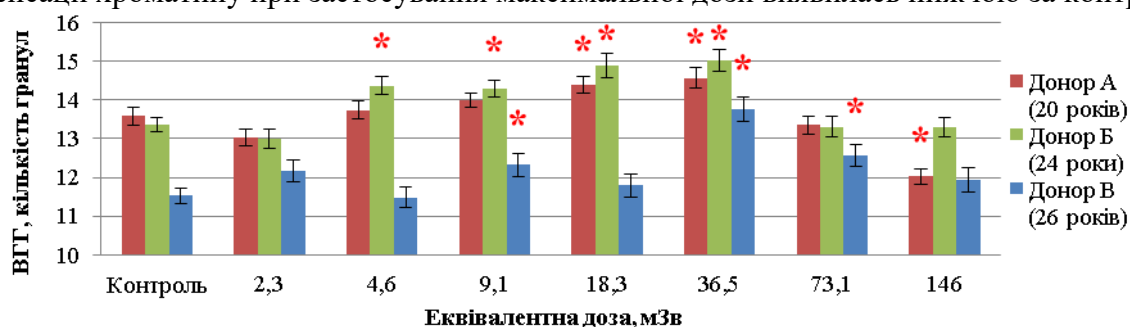


Рис. 1. Зміни конденсованості хроматину в ядрах клітин букального епітелію людини під дією малих доз нейтронного випромінювання; «*» – відмінність від контролю $p < 0.05$

Таким чином, хвилеподібна залежність конденсації хроматину під дією нейтронного випромінювання (Кузнецов та ін., 2016, с. 88) підтвердилася у експериментах з іншими донорами. Подібні зміни можуть свідчити про наявність ефекту гормезису за умов нейтронного випромінювання, який втім має індивідуальні особливості для кожного окремого організму.

Дослідження виконано за грантом Міністерства освіти і науки України № 0115U000487.

Всі експерименти з біоматеріалом, який був отриманий з організму людини, проводились з дотриманням вимог чинного законодавства та норм біоетики.

1. Вірхов, А. И., Дудкин, В. Е., Ковалев, Е. Е. (ред.) и др. (1978) Атлас дозовых характеристик внешнего ионизирующего излучения: Справочник. Москва: Атомиздат.
2. Кузнецов, К.А., Бережной, А.Ю., Кизим, П.С., Оніщенко, Г.М., Шкорбатов Ю.Г. (2016) 'Клеточные эффекты воздействия нейтронного излучения', Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2016: материалы XI международной научно-технической конференции, г. Севастополь: в 2 т. Т. 1., с. 87–90.
3. Kuznetsov, K. A., Kyzym, P. S., Onishchenko, G. M., Berezhnoy, A. Y., Shckorbatov, Y. G. (2015) 'Chromatin changes under exposure to neutron radiation', Advances in Cell Biology and Biotechnology: Proceedings of the International Conference, October 11-13, Lviv, p. 83.

Крос-кореляційний аналіз трансмембранного потенціалу зародкових клітин у ранньому ембріогенезі за дії іонів важких металів

Галик Г.В., Федорович З.Я.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
zoryana.ivanytska@gmail.com

Іони важких металів та їх сполуки є найпоширенішими забруднювачами екосистем [1]. Діючи на зародкові клітини, зумовлюють низку метаболічних змін та впливають на електрофізіологічні параметри клітини. Одним з індикаторів розвитку зародкової клітини є трансмембранний потенціал. Тому актуальним є дослідити взаємозв'язки між часовими сигналами трансмембранних потенціалів для подальшого розуміння, виявлення нової інформації про вплив іонів важких металів на електрофізіологічні показники клітини.

Метою роботи є виявлення та встановлення тісноти зв'язку між часовими рядами сигналів трансмембранних потенціалів за дії нікелю, кобальту, олова та цинку на зародкові клітини в'юна у ранньому ембріональному розвитку.

Вхідними параметрами для проведення аналізу були літературні дані [2]. Проквантувавши з 10-ти хвилинним інтервалом графічні дані отримано часові ряди сигналів трансмембранного потенціалу. Проведено крос-кореляційний аналіз сигналів із випередженням та запізненням у часі.

Результатом крос-кореляційного аналізу часових рядів сигналів трансмембранних потенціалів виявлено, що максимальні значення коефіцієнтів крос-кореляції зміщені відносно нульового лагу. Крос-кореляційні функції мають вигляд коливань, які затухають в обох напрямках відносно осі абсцис (лаги). При вищих значеннях часових зсувів коефіцієнт крос-кореляції стає малоінформативним.

Достовірний позитивний зв'язок спостерігається зі зсувом від 20 до 70 хв. з максимальним значенням коефіцієнта крос-кореляції $r = 0,65$ при $P = 0,05$ через 40 хв. взаємовпливу двох сигналів, якими є трансмембранних потенціалів, виміряних для зародкових клітин, що інкубовані в середовищах без та за дії нікелю. Крива кореляційних функцій трансмембранних потенціалів виміряних для зародкових клітин, що інкубовані в середовищах без та за дії кобальту характеризується достовірним позитивним крос-кореляційним зв'язком, що спостерігається зі зміщеннями від 0 до 60 хв. з максимальним значенням коефіцієнта крос-кореляції $r = 0,68$ при $P = 0,05$ через 10 хв. Максимальне значення крос-кореляції для зародкових клітин, що інкубовані в середовищах без та за дії олова при зміщенні на 10 хв. становить $r = 0,77$ при $P = 0,05$ та характеризується достовірним позитивним зв'язком із зсувом до 50 хв. Взаємовплив характеризується коливною динамікою з достовірним позитивним зв'язком між трансмембранним потенціалом виміряним на ембріональній клітині, за нормальних умов інкубації та за наявності в інкубаційному середовищі іонів цинку та спостерігається з часовим зсувом до 120 хв. Максимальне достовірне значення коефіцієнту крос-кореляції становить $r = 0,42$ на рівні значущості $P = 0,05$ при зсуві на 30 хв.

Отже, за допомогою крос-кореляційного аналізу встановлено достовірний позитивний зв'язок між трансмембранними потенціалами та продемонстровано відтерміновані у часі зміни мембранних потенціалів за впливу іонів нікелю, кобальту, олова та цинку на зародкові клітини у ранньому ембріональному розвитку.

1. Blewett, T. A., & Leonard, E. M. (2017). Mechanisms of nickel toxicity to fish and invertebrates in marine and estuarine waters. *Environmental Pollution*, 223, 311–322.
2. Boiko, N., & Sanagursky, D. (2000). Dynamika transmembrannoho potentsialu zarodkiv v'yuna v umovakh vplyvu ioniv vazhkykh metaliv [Dynamics of transmembrane potential of germ breeding in conditions of influence of heavy metal ions]. *Visnyk of Lviv University. Series biological*, 25, 3–7. (in Ukrainian).

АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК

- Batyuk L.V. **29**
 Belan P.V. **12, 54**
 Belous I. 54
 Berest V.P. **14, 29**
 Biluk A.A. 74
 Bogdanova N. **41**
 Bogovyk R. 30, 31, 39
 Borovyk P.V. 74
 Brovarets' O.O. **60, 61**
 Budianska L.V. **49**
 Chekhun V.F. 67
 Chumachenko V.A. 70
 Cymbalyuk G.S. 18
 Deligeorgiev T. 47
 Dinets A. 60
 Dovbeshko G.I. **52**
 Dovgan A.V. **54**
 Dromaretsky A.V. 54
 Dumanska H.V. **82**
 Dzerzhinsky M.E. 44
 Fedoriuk M. 30, 31, 39
 Frank C. Howarth 19
 Garmanchuk L.V. 17, 74
 Gnatyuk O.P. 52
 Gomory A. 43
 Gorbachenko V.A. **65**
 Gorbenko G. 47
 Harahuts Yu.I. 67, **69, 70**
 Hovorun D.M. 60, 61
 Isaev D. 30
 Isaeva E. 39
 Kalmukova O.O. **44**
 Karakhim S.O. 52
 Kasian N.A. 49
 Kaspirzhnyi A.V. **68**
 Kizilova N.N. 29
 Kononenko N.I. 54
 Konovets I. 72
 Korogod S.M. **18**
 Kosevich M.V. 43, **48**
 Kostiuk A. **72**
 Kozin S. 41
 Kravchuk D. **34, 35**
 Kravchuk L. **34, 35**
 Kravenska E.V. 37, 38
 Krishtal O. 30
 Kruchenko Zh. 65
 Krysa B. 71
 Krysa V. 71
 Kulagina I.B. 18
 Kutsevol N.V. **67, 69, 70, 71**
 Lina Al Kury 19
 Lipson V.V. 49
 Lisetski L.N. 49
 Lukyanets I.A. **40**
 Lukyanetz E.A. 37, 38, 40, 41, 65
 Magura I. 41
 Makedonsky I.A. 18
 Marimonchik A. 54
 Martynuyk V.S. 67, **69**
 Melnick I.V. 37, 40
 Muhammad A. Qureshi 19
 Nadtoka O. **71**
 Naumenko A.P. 67, **70**
 Nehelia A.O. 74
 Nikolaienko O. 39
 Obolenska M. 72
 Ogloblya O.V. 75
 Olenchuk M.V. 52
 Orysyk S.I. 74
 Pashynska V.A. **43**
 Pogorelaya N. 41
 Polovyi I.O. 52
 Purnyn H. 35
 Repich H.H. 74
 Rodriguez R. 72
 Rozumna N.M. 37, **38**
 Ryzhova O. 47
 Satretdinova R. 54
 Savotchenko A. 39
 Semenenko A.N. 49
 Semenikhina M. 30, **39**
 Shelest D.V. 74
 Shestopalova A.V. **55**
 Shmygol A. 19
 Stefanenko M. **30**
 Sydorenko V. **19**
 Tarabara U. **47**
 Trusova V. 47
 Tsiupa K.S. 60, 61
 Tymchyshyn V.B. **74**
 Tyshchenko Y.M. 65

Vakal S.Y. 74
 Vashchenko O.V. 49
 Vekey K. 43
 Venkataraman V. 54
 Veselovsky N.S. 82
 Viviano J. 54
 Voitenko N.V. **11**, 59
 Vrublevsky S.V. 65
 Vus K. 47
 Yavorsky V.A. **37**, 38
 Yeshchenko O.A. 70
 Yurchenko V.V. 49
 Zhang J. 54
 Zholos A.V. 31, 36, 42 **75**
 Zhuravel E.V. 49
 Zhytnikova M.Yu. **55**
 Zozulya S.A. 49
 Алексеева А.Ю. 22
 Анюхін А.Ю. **36**
 Афанасьєва К.С. **59**
 Бабець Я.В. 85
 Бабіч Л.Г. 83
 Бабський А.М. **16**, 58
 Бережний А.Ю. 86
 Берест В.П. **14**, 29
 Бігоцька О.І. **77**
 Біловецька С.Г. **21**
 Білонога О.О. 9
 Бірдус С.Е. 51
 Блащак І.О. 57
 Боброва О.М. 80
 Боговик Р.І. 30, 31, 39
 Богуцька К.І. 62
 Боднарчук Н.О. 79
 Болдирєв О.І. 56
 Бондаренко М.А. **32**
 Боряк О.А. 48
 Векліч Т.О. **23**
 Верещак Т.В. 56
 Веселовський М.С. 25, 27, 33, 45
 Войтенко Н.В. **11**, 59
 Войтешенко І.С. 76
 Галик Г.В. **87**
 Гарагуц Ю.І. 67, **69**, 70
 Гарасим Н.П. **79**
 Гарманчук Л.В. 17, 74
 Генєга А.Б. 81
 Гнатчук І.Ю. **63**
 Говорова Ю.С. 80
 Гренюх В.П. 16, 58

Давиденко І.І. **69**
 Давиденко М.О. **69**
 Давидовська Т.Л. 10, 76
 Данилович Г.В. **15**
 Данилович Ю.В. 15
 Дзюба Д.О. 31
 Дискіна Ю.Б. 22, 73
 Довбань О.О. 85
 Дринь Д.О. **31**
 Дрозд О. 42
 Дужий Д.Є. 59
 Дягелева О.А. 14
 Єльяшов С.І. 22, **78**
 Єсипенко О.А. 83
 Жигалова Н.М. 14
 Жолос О.В. 31, 36, 42 **75**
 Завгородня В.А. 64
 Заєць В.М. 57
 Зай С.Ю. 62
 Зайцева О.В. 32
 Зобніна В.Г. 48
 Іванова. С.Ю. 24
 Кальченко В.І. 83
 Кеппл О.Ю. **66**
 Кизим П.С. 86
 Кнігавко В.Г. 32
 Коваленко І.Ф. 21
 Коваленко С.О. **64**
 Колесник О.П. **33**
 Коломієць Л.А. 57
 Корнелюк О.І. 57
 Косевич М.В. 43, **48**
 Косяк В.В. 31
 Костерін С.О. **8**, 83
 Котик О.А. **28**
 Котлярова А.Б. **28**
 Кравчук Д.І. **34**, **35**
 Кравчук Л.І. **34**, **35**
 Кузнецов К.А. **86**
 Кузнецов К.І. **45**
 Кузьма В.В. 51
 Куцевол Н.В. **67**, **69**, 70, 71
 Кушнарєва-Вакал А.М. 83
 Лаврик Р. **42**
 Лазоренко І. 42
 Лизогуб В.С. **7**
 Лук'янець О.О. 50
 Мазур Г.М. **20**
 Мандзинець С.М. 16, 58
 Манько Б.О. 9, 20

- Манько В.В. **9**, 20, 63
 Мартинюк В.С. 67, **69**
 Марченко С.М. 28
 Маслов В.Ю. 25, 45
 Мельник М.І. **31**
 Митропольський І.Є. 51
 Мокринська О.В. **69**
 Мороз О. 42
 Мотузюк О.П. 62
 Нардід О.А. 80
 Нарожний С.В. **80**
 Насібян Л.С. 22, **73**
 Настенко А.О. **27**
 Науменко А.М. 10, **76**
 Нипорко О.Ю. 76
 Ніколаєнко Л. 24
 Ноздренко Д.М. **62**
 Обушак М.Д. 16
 Оніщенко Г.М. 86
 Орлова Н.В. 26
 Остап'юк Ю.В. 16
 Павлов В.О. **69**
 Пасічник А.Л. **46**
 Петрушенко М.О. **50**
 Петрушенко О.А. 50
 Плохотніченко О.М. 48
 Попович М.В. 58
 Прилуцький Ю.І. 62
 Пурнинь О.Е. 27, 34
 Раєцька Я.Б. 46
 Ребрієв А.В. 17
 Репіна С.В. 80
 Розанова К.Д. 80
 Савчук О.М. 46
 Сагач В.Ф. 76
 Санагурський Д.І. 79
 Свида Ю.Ю. 51
 Семочко О.М. **81**
 Сиволоб А.В. 59
 Силенко А.В. **83**
 Сікорська А.О. 84
 Січевська Л.В. 14
 Соткіс А.В. 73
 Соткіс Г.В. 78
 Сотніков А.А. 14
 Стародуб М.Ф. **66**
 Стогній Є.М. **17**
 Стойка Р.С. 16
 Сторожук М.В. **24**
 Суханова Х.Ю. **53**
 Суховія М.І. **51**
 Ушакова Г.О. **85**
 Ушкалов В.О. **66**
 Федірко Н.В. **84**
 Федорович З.Я. 87
 Федорюк М.П. 30, 31, 39
 Федулова С.А. 25, 33, 45
 Фінюк Н.С. 16
 Цимбалюк О.В. **10**, 76
 Цуварєв О.Ю. **57**
 Цугорка О.М. 73, 78
 Чабаненко О.О. **26**
 Чернишенко В.О. 17
 Чорненька Н.М. 46
 Чуніхін О.Ю. 83
 Шалай Я.Р. 16, **58**
 Шаповал Л.М. 76
 Шаропов Б.Р. **22**, 78
 Шафраньош І.І. 51
 Шафраньош М.І. 51
 Шелковський В.С. 48
 Шипшина М.С. **25**
 Шкорбатов Ю.Г. 21, 86
 Шкрабак О.А. 23
 Шликов С.Г. 83
 Шпакова Н.М. 26
 Штефан Н.Л. **56**
 Шуба Я.М. **13**, 56, 78
 Щетинський М.І. 80
 Щусь О.Ф. 86
 Яремчук М.М. 81

Наукове видання

**Матеріали Тематичного VII з'їзду
Українського біофізичного товариства**

Упорядники збірника
Мороз Олеся Федорівна
Мельник Марія Ігорівна
Блащак Іван Олександрович
Суханова Христина Юріївна