

13. Курнаев, С. Ф. Основные типы леса Русской равнины [Текст] / С. Ф. Курнаев. – М.: Наука, 1968. – 351 с.

#### References

1. Skliar, V. G. (2015). Natural regrowth as a mechanism for ensuring of functioning of forest phytocenosis on Left bank Ukraine Polissya (population and eco-coenotic aspects). Kyiv, 46.
2. Povarnytsyn, V. A. (1959). Woods of Ukrainian Polissya. Kyiv: Izdatel'stvo USSR Academy of Sciences, 208.
3. Piatnitski, S. S. (1959). Technique of research of natural regrowth of forests in the left-bank forest-steppe of Ukraine. Kharkiv, 39.
4. Lositsky, K. B. (1963). Restoring of oak forests. Moscow: Izdatel'stvo s/h literature, zhurnalov i plakatov, 358.
5. Zlobin, Y. A. (1972). Number and placement of the undergrowth on the areas of regrowth. Bot. Zh., 57 (6), 632–643.

6. Regrowth of the forest (1975). Moscow: Kolos, 368.
7. Melekhov, J. S. (1980). Forestry. Moscow: Lesnaja promishlenost', 405.
8. Zlobin, Y. A. (1970). Quality rating undergrowth of coniferous trees. Forest Science, 3, 96–102.
9. Zlobin, Y. A. (1989). Principles and methods for the study of plant cenopopulations. Kazan: Izdatel'stvo Kazanskogo un-ta, 146.
10. Zlobin, Y. A. (2009). Population ecology of plants: modern state, points of growth. Sumy: Universitetskaja kniga, 263.
11. Hunt, R. (1978). Plant growth analysis. London: Arnold, 67.
12. Vorobyov, D. V. (1953). Types of forests of the European part of the USSR. Kyiv: Izdatel'stvo Akademii nauk, 450.
13. Kurnaev, S. F. (1968). Main forest types of the Russian Plain. Moscow: Nauka, 351.

Дата надходження рукопису 21.09.2015

**Скляр Вікторія Григорівна**, доктор біологічних наук, доцент, завідувач кафедри, кафедра екології та ботаники, Сумської національний аграрний університет, ул. Герасима Кондратьєва, 160, г. Суми, Україна, 40021  
E-mail: skvig@mail.ru

УДК 57.043:576.311.347:577.334

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.51962

## ВПЛИВ ГІПОКСИ-ГІПЕРКАПНІЇ НА СТРУКТУРНИЙ СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ

© С. В. Хижняк, Л. І. Степанова, С. М. Мідик, С. Д. Мельничук

*Досліджено структурно-динамічні властивості клітинних мембран гепатоцитів щурів за гіпоксично-гіперкапнією при зниженні температури (штучний гіпобіоз) методом флуоресцентних зондів. Структурна реорганізація досліджуваних мембран (в більшій мірі внутрішньої мембрани мітохондрій) за штучного гіпобіозу полягає в перебудовах їх поверхневого шару, зменшенні впорядкованості ліпідної компоненти та конформаційних модифікаціях білкових макромолекул*

**Ключові слова:** флуоресцентні зонди, мітохондрія, мембрани, ліпідний бішар, мікров'язкість, гіпоксія, гіперкапнія

*The structural and dynamic state of cellular membranes of rat hepatocytes under the influence of hypoxia, hypercapnia and hypothermia factors (artificial hypobiosis) was investigated using the method of fluorescent probes. The diverse changes of the structure and physical properties of these membranes (especially of inner mitochondrial membrane) were shown. The structural reorganization of the membrane surface area, the decrease of the lipid structural orderliness and conformational modification of proteins occur during artificial hypobiosis*

**Keywords:** fluorescent probes, mitochondria, membranes, lipid bilayer, microviscosity, hypoxia, hypercapnia

### 1. Вступ

Актуальною проблемою біології та практичної медицини залишається дослідження адаптації тварин, у тому числі людини, до низьких температур. Штучна гіпотермія (гіпобіоз), яку можна створити із використанням гіпоксично-гіперкапнічного газового середовища при зниженні температури тіла, широко використовується в медичній практиці з метою лікування та реабілітації після різноманітних захворювань, операцій тощо [1, 2].

Формування штучного гіпобіотичного стану веде до гіпометаболізму [3, 4], а залучення клітинних мембран до регуляції метаболічних процесів пов'язано з їх структурними модифікаціями [5]. Зміни в регуляції активності мембранозв'язаних ферме-

нтів та сигнальних білків можуть бути зумовлені модифікацією характеру молекулярних взаємодій білкових молекул та анулярних ліпідів (білок-ліпідні взаємодії), а зміни структурної впорядкованості (мікров'язкості) ліпідної компоненти впливають на організацію функціонально-активної конформації білкових молекул в мембрані [6]. Проте перебіг цих процесів для клітинних мембран за штучного гіпобіозу залишається невідомим.

### 2. Постановка проблеми

Метою роботи було дослідження структурної впорядкованості білкової та ліпідної компонент мікросомальної та внутрішньої мітохондріальної мембран гепатоцитів щурів за штучно створеного

гіпобіозу (вплив гіпоксії та гіперкапнії в умовах гіпотермії).

### 3. Літературний огляд

Формування гіпобіотичного стану є адаптивною ознакою як рослинного, так і тваринного організмів, реалізація якої обумовлена функціонуванням клітинних систем [3, 4]. Показано, що один з механізмів захисту від різкого зниження температури полягає в зміні енергетичних процесів, які в значній мірі обумовлені функціонуванням мітохондрій [2]. З іншого боку, мітохондрії чутливі до будь-якого впливу, особливо до кисневої недостатності [7]. Функціональну активність мітохондрій, перш за все забезпечує її внутрішня мембрана, яка містить компоненти електрон-транспортного (дыхального) ланцюга [8]. Дослідження за штучного гіпобіозу енергетичної активності мітохондрій гепатоцитів свідчить про зниження їх дихання та часткове роз'єднання процесів спряження окислення та фосфорилування, що супроводжується пригніченням активності IV комплексу дыхального ланцюга (цитохромоксидази) [9, 10].

Зміни функціональної активності клітинних мембран обумовлюються їх складом та фізико-хімічними властивостями, які виявляються за різноманітних екзогенних впливах на організм (іонізуюча радіація, важкі метали тощо) [11, 12]. Важливим є з'ясування характеру структурно-динамічної модифікації клітинних мембран за впливу гіпотермії, гіперкапнії та гіпоксії для встановлення клітинних механізмів штучного гіпобіозу.

### 4. Матеріали і методи дослідження

Дослідження були проведені на безпородних щурах-самцях масою тіла 170–180 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. При експерименті дотримувались усі біоетичні норми, згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Стразбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Стан штучного гіпобіозу створювали за методикою Бахметьєва-Джайя-Анжуса, яка детально описана в роботах [1]. Тварин поміщали в герметично закрити камеру, об'єм якої складав 3 л, а температура в ній становить – 3–4 °С. Протягом подальших 3,5 год у камері змінюється склад газового середовища: зростає вміст вуглекислого газу та зменшується рівень кисню — у тварин розвивається гіперкапнія та гіпоксія, а температура тіла знижується до 16.5 °С. Тварин при досягненні стану штучного гіпобіоз, а також тварин контрольної групи, піддавали декапітації.

Отримання мітохондріальної та післямітохондріальної - мікосоми (ММ) фракцій клітин печінки проводили із застосуванням методу диференційного центрифугування [13]. Для одержання препаратів внутрішньої мітохондріальної мембрани (ВММ) проводили дворазову процедуру заморожування-відтаювання суспензії мітохондрій з подальшим її центрифугуванням при 25000 g протягом 30 хв. Концентрацію білка вимірювали методом Грінберга [14]. Ступінь чистоти препаратів ВММ та мембран мікосом (ММ) оцінювали за активністю маркерних ферментів сукцинатдегідрогенази та 5'-нуклеотидази [13].

Структурно-динамічний стан ліпідної та білкової компонент клітинних мембран оцінювали за допомогою флуоресцентних зондів, як детально описано в роботі [11], які локалізуються в різних ділянках мембрани: 1-анілінонафталин-8-сульфонат (АНС) – в основному на поверхні мембранного бішару, пірен – в зоні жирнокислотних ланцюгів фосfolіпідів [15]. До суспензії мембран (0,1 мг/мл) в 2,0 мл буферу, який містив 0,1 М КСl, 25 мМ Трис (рН=7,0) при безперервному перемішуванні порціями додавали 1 мМ спиртовий розчин пірену до кінцевої концентрації 5 мкМ. Через 15 хв інкубації реєстрували спектри флуоресценції. Мікрров'язкість ліпідної компоненти мембран визначали за ступенем ексимеризації пірену  $N(N=F_e/F_m)$ , де  $F_e$  – інтенсивність флуоресценції ексимерів пірену, а  $F_m$  – мономерів) для загальної ліпідної фази при  $\lambda_{36}=335\text{нм}$  ( $N_{335}$ ) і анулярних ліпідів при  $\lambda_{36}=280\text{нм}$  ( $N_{280}$ ) [15]. Інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків білків мембран реєстрували при 338 нм, довжина хвилі збудження – 296 нм. Конформаційний стан білкових молекул у мембранах оцінювали за ефективністю гасіння акриламідом триптофанової флуоресценції згідно [16]. Суспензію мембран (0,1 мг/мл в об'ємі 2 мл) титрували 1 М розчином акриламіду до кінцевої концентрації 0,4 М. Флуоресцентні дослідження проводили на спектрофлуориметрі Shimadzu-RF510 (Японія).

Результати експериментальних досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Зміни показників вважали вірогідними при  $P<0,05$ .

### 5. Результати дослідження

Отримані дані по дослідженню взаємодії флуоресцентного зонду АНС з мембранами гепатоцитів за штучного гіпобіозу свідчать про зниження інтенсивності флуоресценції АНС, зв'язаного з ВММ на 19 % та ММ на 15 % відносно контролю, що, ймовірно, обумовлено зменшенням кількості місць зв'язування зонду з мембранами на 21 та 15 % відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

Спектральні характеристики флуоресцентного зонду АНС, зв'язаного з препаратами внутрішньої мітохондріальної (ВММ) та мікосомальної мембран (ММ) гепатоцитів щурів ( $M\pm m, n=6$ )

Умови досліджу	ВММ		ММ	
	Контроль	Гіпобіоз	Контроль	Гіпобіоз
Інтенсивність флуоресценції АНС, відн.од.	1,00±0,02	0,81±0,03*	1,00±0,02	0,85±0,03*
Константа зв'язування, $10^4\text{ M}^{-1}$	52,9±0,37	55,9±0,61	36,1±0,48	28,5±0,31
Кількість місць зв'язування, нмоль / мг білка	33,7±2,7	26,6±1,9*	21,7±1,8	18,5±1,7*

Примітка: \* –  $P<0,05$  щодо контролю

Константа зв'язування зонду з відповідними мембранами за гіпобіозу не відрізняється від контрольних значень (табл. 1). Враховуючи локальні структурні перебудови мембрани в місцях зв'язування АНС, про що свідчать спектральні характеристики флуоресценції мембранозв'язаного АНС, необхідно відмітити зміни як фізичних властивостей мікрооточення зонду, так конформації мембранних компонент за штучного гіпобіозу.

Визначення власної флуоресценції мембран, яка в значній мірі обумовлена наявністю білкових триптофанілів, показало, що за штучного гіпобіозу інтенсивність триптофанової флуоресценції ВММ зменшується, а ММ – збільшується на 15 та 12 % відповідно (табл. 2). Це може бути обумовлено структурними перебудовами в мембрані, оскільки інші спектральні характеристики триптофанової флуоресценції (положення максимуму спектру та ширина спектру флуоресценції) залишаються незмінними (дані не наведено).

Для оцінки конформаційного стану білкових молекул досліджували гасіння їх триптофанової флуоресценції нейтральним полярним гасником – акриламідом. Аналіз даних по гасінню в модифікованих координатах Штерна-Фольмера, згідно [16], дозволяє визначити частку флуоресценції триптофанових залишків ( $\beta$ ), яка доступна для гасіння, та ефективну константу гасіння ( $K_{SV}$ ), зміни якої відображають структурну динаміку білкових молекул. Причому ефективність гасіння триптофанової флуоресценції передусім залежить від швидкості дифузії гасника всередину білкової матриці, що обумовлено флуктуацією, тобто конформаційною динамікою. За гіпобіозу частка доступних для гасіння триптофанових залишків білкових молекул досліджуваних мембран не змінюється. встановлено зниження величина  $K_{SV}$  для препаратів ВММ на 30 %, а ММ на 20 % відносно контролю (табл. 2), що свідчить про зменшення рухливості білкових молекул, тобто підвищення їх внутрішньомолекулярної жорсткості, яке може забезпечувати їх функціональну активність.

Таблиця 2

Показники гасіння акриламідом триптофанової флуоресценції внутрішньої мітохондріальної (ВММ) та мікросомальної мембран (ММ) гепатоцитів щурів ( $M \pm m, n=6$ )

Умови досліджу	ВММ		ММ	
	Контроль	Гіпобіоз	Контроль	Гіпобіоз
Інтенсивність триптофанової флуоресценції $F_0$ , відн.од.	1,00±0,02	0,85±0,04*	1,00±0,03	1,12±0,06*
Частка доступних гасінню триптофанових залишків, $f_a$	0,64±0,04	0,66±0,03	0,76±0,03	0,78±0,04
Константа Штерна-Фольмера ( $K_{SV}$ ), $M^{-1}$	7,21±0,38	5,04±0,16*	10,51±0,04	8,39±0,04*

Примітки:  $K_{SV}$  – константа Штерна-Фольмера;  $F_0$  – інтенсивність флуоресценції за відсутності гасника,  $\lambda_{36} = 295$  нм,  $\lambda_{em} = 340$  нм,  $f_a$  – частка флуоресценції, яка зазнає гасіння; \* –  $P < 0,05$  щодо контролю

Відомо, що основу структурної та функціональної цілісності біологічної мембрани складають білок-ліпідні взаємодії, які залежать як від організації білкових молекул в мембрані, так і структурної впорядкованості (мікрів'язкості) ліпідної компоненти мембран [6].

Мікрів'язкість ліпідної компоненти мембран досліджували з використанням гідрофобного зонду пірену, молекули якого локалізуються в ділянці жирнокислотних ланцюгів фосfolіпідів. При фіксованій температурі та концентрації зонду ступінь ексимеризації зонду залежить від мікрів'язкості його оточення і може виступати її характеристикою. З підвищенням мікрів'язкості дифузія молекул зонду уповільнюється, тому ймовірність зіткнення двох молекул зменшується, відповідно зменшується і ступінь його ексимеризації [4].

Визначення мікрів'язкості двох ліпідних фаз у одному зразку проводили при  $\lambda_{36} = 335$  нм (в'язкість загальної ліпідної фази) та використовуючи метод індуктивно-резонансного переносу енергії (ІРПЕ) з триптофанових залишків мембранних білків на пірен при  $\lambda_{36} = 280$  нм (в'язкість анулярних ліпідів - знаходяться на відстані ближче 3 нм від білкової глобули). Всі дані розраховували виходячи з первинних спектрів флуоресценції.

На існування явища переносу енергії з мембранних білків на пірен вказують наступні дані. При внесенні пірену до проби, що містить мембранні препарати, інтенсивність триптофанової флуоресценції

при  $\lambda_{fl} = 340$  нм зменшується поряд із збільшенням флуоресценції при  $\lambda_{fl} = 390$  нм та  $\lambda_{fl} = 470$  нм відповідно мономерної та ексимерної форм пірену. Тобто, в препаратах відбувається міграція енергії з триптофанових залишків білків на пірен.

Результати по визначенню величини ступеню ексимеризації пірену у мембранних препаратах представлено в табл. 3. За штучного гіпобіозу для препаратів ВММ ступінь ексимеризації пірену в загальній ліпідній фазі ( $N_{335}$ ) зростає на 12 %, а для анулярних ліпідів ( $N_{280}$ ) на 23 %. Отримані результати свідчать про зниження мікрів'язкості ліпідної компоненти внутрішньої мембрани мітохондрій. Слід зауважити, що ступінь ексимеризації пірену в різних ліпідних пулах ВММ як в контролі, так і за гіпобіозу значно не відрізняється. Цей факт вказує на відносну однорідність фізичних властивостей (мікрів'язкості) ліпідної фази мембрани мітохондрій. За штучного гіпобіозу для препаратів ММ ступінь ексимеризації пірену в загальній ліпідній фазі та для анулярних ліпідів достовірно не змінюється.

Виявлене зниження структурної впорядкованості ліпідної компоненти ВММ гепатоцитів за штучного гіпобіозу свідчить про порушення білок-ліпідних взаємодій в мембрані. В'язкість ліпідів, як відомо, є інтегральною величиною і залежить від складу фосfolіпідів, вмісту холестеролу, який впорядковує структуру мембрани, кількості ненасичених жирних кислот та ступеня їх ненасиченості тощо. Крім того, зміна в'язкості ліпідної фази мембран мо-

же бути пов'язана з порушенням гідрофобних взаємодій між молекулами ліпідів та  $\alpha$ -спіральними ділянками білків [17].

В. С. Морозова, С. В. Хижняк, В. М. Войціцький // Наукові праці Чорноморського держ. ун-ту ім. Петра Могили. Сер. «Техногенна безпека». – 2013. – Т. 210, Вип. 198. – С. 92–95.

Таблиця 3  
Ступінь ексімеризації пірену у препаратах внутрішньої мітохондріальної (ВММ) та мікосомальної мембран (ММ) гепатоцитів щурів ( $M \pm m, n=6$ )

Умови досліджу	ВММ $N_{280}$ , від. од.	ВММ $N_{335}$ , від. од.	ММ $N_{280}$ , від. од.	ММ $N_{335}$ , від. од.
Конт-роль	0,139±0,03	0,150±0,03	0,150±0,06	0,234±0,07
Гіпобіоз	0,171±0,03*	0,168±0,03*	0,134±0,07	0,212±0,05

Примітка:  $N_{280}$  – ступінь ексімеризації пірену в області анулярних ліпідів ( $\lambda_{36}=280$  нм) та  $N_{335}$  – в області загальної ліпідної фази ( $\lambda_{36}=335$  нм);

\* –  $P < 0,05$  щодо контролю

### 7. Висновки

Аналіз отриманих результатів свідчить, що введення тварин в стан штучного гіпобіозу за впливу гіпоксигіперкапнічного середовища при зниженні температури тіла супроводжується змінами структури та фізичних властивостей клітинних мембран гепатоцитів щурів, які полягають у модифікації поверхневих ділянок мембран, структурної впорядкованості ліпідної компоненти, гідрофобних білок-ліпідних взаємодій, зниженням конформаційної рухливості мембранних білкових молекул. Враховуючи, що функціонування мембранних систем, в тому числі інтегральних мембранних білків, залежить від їх динамічних властивостей та ліпідного оточення, виявлені за гіпобіозу зміни структурно-динамічної впорядкованості переважно мітохондріальної мембрани, може призводити до змін функціонування транспортних систем мембран, процесів енергетичного обміну тощо. Це може виступати складовою клітинного механізму дії гіпоксигіперкапнічного середовища.

### Література

1. Мельничук, С. Д. Гіпобіоз тварин (молекулярні механізми та практичне значення для сільського господарства і медицини) [Текст] / С. Д. Мельничук, Д. О. Мельничук. – К.: Видавничий центр НАУ, 2007. – 220 с.
2. Лукьянова, Л. Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции [Текст] / Л. Д. Лукьянова // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2011. – № 1. – С. 3–19.
3. Withers, P. C. Metabolic depression: a historical perspective [Text] / P. C. Withers, C. E. Cooper // Progress in Molecular and Subcellular Biology. – 2009. – Vol. 49. – P. 1–23. doi: 10.1007/978-3-642-02421-4\_1
4. Тимофеев, Н. Н. Гипобіоз и криобиоз. Настоящее, прошлое и будущее [Текст] / Н. Н. Тимофеев. – М.: Информ-Знание, 2005. – 256 с.
5. Brown, V. S. Biological membranes [Text] / V. S. Brown. – Manchester: «Oxford Road», 1999. – 45 p.
6. Геннис, Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции [Текст] / Р. Геннис. – М.: Мир, 1997. – 624 с.
7. Скулачев, В. П. Мембранная энергетика [Текст] / В. П. Скулачев, А. В. Богачев, Ф. О. Каспаринский. – М.: Изд-во Московского ун-та, 2010. – 368 с.
8. Мельничук, С. Д. Природа та біоенергетичні механізми штучного гіпобіозу [Текст] / С. Д. Мельничук,

Таблиця 3

9. Staples, J. F. Mitochondrial metabolism in hibernation and daily torpor: a review [Text] / J. F. Staples, J. C. L. Brown // Journal of Comparative Physiology B. – 2008. – Vol. 178, Issue 7. – P. 811–827. doi: 10.1007/s00360-008-0282-8

10. Мельничук, С. Д. Показники дихання і фосфорилування мітохондрій гепатоцитів щурів за штучного гіпобіозу [Текст] / С. Д. Мельничук, В. С. Морозова, С. В. Хижняк, В. М. Войціцький // Біологія тварин. – 2012. – Т. 14, № 1-2. – С. 155–161.

11. Войціцький, В. М. Радіаційно-індукована структурно-метаболична модифікація еритроцитів та лімфоїдних клітин [Текст] / В. М. Войціцький; під заг. ред. М. С. Кучеренка. – К.: «Укрфітосоціоцентр», 2006. – 245 с.

12. Хижняк, С. В. Клітинні механізми токсичності кадмію [Текст] / С. В. Хижняк. – К.: Видавництво „LAT&K”, 2010. – 213 с.

13. Практикум по биохимии [Текст]: уч. пос. / под ред. С. Е. Северина, Г. А. Соловьевой. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.

14. Greenberg, C. S. Rapid single-step membrane protein assay [Text] / C. S. Greenberg, P. R. Craddock // Clin. Chem. – 1982. – Vol. 28, Issue 7. – P. 1725–1726.

15. Добрецов, Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов [Текст] / Г. Е. Добрецов. – М.: Наука, 1989. – 277 с.

16. Лактович, Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии [Текст] / Дж. Лактович. – М.: Мир, 1986. – 236 с.

17. Zhirnov, V. The effects of ultra-low dose  $\beta$ -radiation on the physical properties of human erythrocyte membranes [Text] / V. Zhirnov, S. Khyzhnyak, V. Voitsitsky // International Journal of Radiation Biology. – 2010. – Vol. 86, Issue 6. – P. 499–506. doi: 10.3109/09553001003717167

### References

1. Melnychuk, S. D., Melnychuk, D. O. (2007). Hipobioz tvaryn (molekulyarni mekhanizmy ta praktychne znachennya dlya sil'skoho hospodarstva i medytyny). Kyiv: NULES press, 220.
2. Lukjanova, L. D. (2011). Sovremennye problemi adaptatsii k gipoksii. Signalnie mekhanizmy i ih rol v sistemno rekhulatsii. Patol. fiziologija i jeksperim. terapija, 1, 3–19.
3. Withers, P. C., Cooper, C. E. (2009). Metabolic Depression: A Historical Perspective. Progress in Molecular and Subcellular Biology, 49, 1–23. doi: 10.1007/978-3-642-02421-4\_1
4. Timofeev, N. N. (2005). Hypobiosis and cryobiosis. Past, present and future. Moscow: Inform-Znanie, 256.
5. Brown, V. S. (1999). Biological membranes. Manchester: «Oxford Road», 45.
6. Gennis, R. (1997). Biomembranes: molecular structure and function. Moscow: Mir, 624.
7. Skulachev, V. P., Bogachev, A. V., Kasparinskij, F. O. (2010). Membrane energy. Moscow: Moscow university press, 368.
8. Melnychuk, S. D., Morozova, V. S., Khyzhnyak, S. V., Voitsitskiy, V. M. (2013). Priroda i bioenergetichni mekhanizmi shtuchnoho gipobiosu. Naukovi prazhi Chornomorskogo dersh. universitetu Petra Mogili «Tekhnogenna bezpeka», 210 (198), 92–95.
9. Staples, J. F., Brown, J. C. L. (2008). Mitochondrial metabolism in hibernation and daily torpor: a review. Journal of Comparative Physiology B, 178 (7), 811–827. doi: 10.1007/s00360-008-0282-8

10. Melnychuk, S. D., Morozova, V. S., Khyzhnyak, S. V., Voitsitskiy, V. M. (2012). Pokazniki dikhanny I pfofporylyuvanny mitokhondriy gepatozhitiv shzhyriv za shtuchnogo gipobiosu. *Biologiy tvarin*, 14 (1-2), 155–161.

11. Voitsitskiy, V. M.; Kucherenko, M. Ye. (Ed.) (2006). Radiatsiino-indukovana strukturno-metabolichna modifikatsiy enterotsitiv ta limfoidnih klitins/ Under the editorship of M. Ye. Kucherenko. Kyiv: Ukrphitosotsiotsentr, 245.

12. Khyzhnyak, S. V. (2010). Cellular mechanisms of cadmium toxicity. Kyiv: „LAT&K”, 213.

13. Severin, S. E., Solov'eva, G. A. (Eds.) (1989). *Praktikum po biohimii [Workshop on Biochemistry]*. Moscow: MSU press, 509.

14. Greenberg, C. S., Craddock, P. R. (1982). Rapid single-step membrane protein assay. *Clin. Chem.* 28 (7), 1725–1726.

15. Dobrecov, G. E. (1989). *Fluorescent Probes in the study of cell membranes and lipoproteins*. Moscow: Nauka, 277.

16. Laktovich, Dzh. (1986). *Basic principles of the fluorescence spectroscopy*. Moscow: Mir, 236.

17. Zhimov, V. V., Khyzhnyak, S. V., Voitsitskiy, V. M. (2010). The effects of ultra-low dose  $\beta$ -radiation on the physical properties of human erythrocyte membranes. *International Journal of Radiation Biology*, 86 (6), 499–506. doi: 10.3109/09553001003717167

*Дата надходження рукопису 22.09.2015*

**Мельничук Сергій Дмитрович**, доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент УААН, кафедра біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції імені академіка М. Ф. Гулого, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041

**Хижняк Світлана Володимирівна**, доктор біологічних наук, професор, провідний науковий співробітник, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041  
E-mail: khs2014@ukr.net

**Степанова Людмила Іванівна**, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Лабораторія фізико-хімічної біології ННЦ „Інститут біології”, Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 60, м. Київ, Україна, 01601

**Мідик Світлана Миколаївна**, кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041

УДК 616-006.04:618.19:615.373

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.51365

## **ВПЛИВ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН НА ПУХЛИННІ КЛІТИНИ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ БЕЗКОНТАКТНОМУ СПІВ-КУЛЬТИВУВАННІ**

© **О. М. Перепелиціна, О. В. Ястребова, С. В. Безуглий, М. В. Сидоренко**

*В данній роботі було визначено кінетичні параметри росту пухлинних клітин людини (MCF-7) in vitro при спів-культивуванні з МСКл, оцінено рівень експресії деяких онкогенних маркерів пухлинними клітинами (естрогенового рецептору, рецептору епідермального фактору росту, цитокератинів та E-кадгеріну) під впливом МСКл та проведено порівняльний аналіз вищезазначених параметрів при різних строках культивування в суспензивній та адгезивній фракціях культури*

**Ключові слова:** мезенхімальні стовбурові клітини, естрогеновий рецептор, рецептор ЕФР, цитокератин, E-кадгерин

*In the present work were determined the kinetic parameters of the growth of human tumor cells (MCF-7) in vitro when co-cultured with MSCs, estimated levels of expression of some tumor markers by tumorigenic cells (estrogen receptor, EGF receptor, cytokeratin and E-cadherin) under the influence of human MSCs, and conducted a comparative analysis of the above parameters at different stages of cultivation in suspension and adhesion culture fractions*

**Keywords:** mesenchymal stem cells, estrogen receptor, EGFR, cytokeratin, E-cadherin

### **1. Вступ**

Клітинна замісна терапія – направлення в медицині, що використовує здатність стовбурових клітин (зокрема мезенхімальних стовбурових клітин (МСК)) відновлювати тканини і органи людини. По

всьому світу вивчають можливості клітинної терапії і застосовують, для лікування спадкових і набутих хвороб, які до цього часу вважалися невиліковними при традиційних підходах терапії, в тому числі і для раку. Є багато особливостей, які роблять цю нову