

2. Chang J.C. Glutathione reductase in the red blood cells.// Chang J.C., van der Hoeven L.H., Haddox C.H. / Annals of Clinical & Laboratory Science. 1978;8.1:23-29.

3. Lazo-de-la-Vega-Monroy M. Oxidative stress in diabetes mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role for Antioxidants.// Lazo-de-la-Vega-Monroy M., Fernandez-Mejia C /2013;209-231.

4. Maritim A.C. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review J Biochem molecular toxicology. Diabetes care.// Maritim A.C., Sanders R.A., Watkins III J.B./2003;17(1): 24-38.

5. Mooradian Arshag D., et al. Selected vitamins and minerals in diabetes. //Mooradian Arshag D., et al. / 1994;17.5:464-479.

6. Rohilla A, Ali S. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. Int J Res Pharma Biomedical Sci. // Rohilla A, Ali S./ 2012;3:819-823.

7. Беленічев І.Ф. Антиоксидантна система захисту організму (огляд). Совр. пробл. токсикоз.// Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Губський Ю.І / 2002;3:24-29.

8. Влізло В.В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. – Львів.: СПОЛОМ, // Влізло В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. та ін / 2012.

9. Коробейникова Э.Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК. Лаб. дело.// Коробейникова Э.Н /1989;7:8–10.

10. Мирончик В.В. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях. Авторское свидетельство №1084681 СССР, МКИ G № 33/48. (СССР). №3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84. Бюл. №13.

11. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте. Лаб. дело.// Чевари С., Андял Т., Штирнеер Д/ 1991;10:9–13.

Надійшла до редколегії 16.06.16

Е. Шатинская, асп., Р. Искра, д-р биол. наук
Институт биологии животных НААН, Львов, Украина

КОРРЕКЦИЯ ЦИТРАТОМ МАГНИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В КРОВИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ

Исследовали влияние различных концентраций цитрата магния (100, 250 и 500 мг/кг массы тела) на процессы перекисного окисления липидов и активность системы антиоксидантной защиты в крови крыс с экспериментальным сахарным диабетом, который вызван однократным введением 5% раствора аллоксан моногидрата. Активность ферментов антиоксидантной защиты каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и содержание восстановленного глутатиона исследовали в лизатах эритроцитов, а содержание продуктов перекисного окисления липидов – в плазме крови. У крыс с экспериментальным сахарным диабетом наблюдалось повышение уровней гидроперекисей липидов и ТБК-положительных продуктов на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты. Цитрат магния, который в течение четырех недель вместе с питьевой водой добавляли в рацион животных, проявлял положительный стабилизирующий эффект, в частности, содержание гидроперекисей липидов и ТБК-положительных продуктов снизилось, а активность ферментов системы антиоксидантной защиты увеличилась. Наши данные показывают, что добавки цитрата магния могут частично восстановить антиоксидантные параметры и уменьшить окислительный стресс у крыс с диабетом индуцированным аллоксаном.

Ключевые слова: цитрат магния, сахарный диабет, антиоксидантная система.

O. Shatynska, PhD stud., R. Iskra, DSc.
Institute of Animal Biology UAAS, Lviv, Ukraine

CORRECTION MAGNESIUM CITRATE OXIDATIVE STRESS IN BLOOD OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

The investigation of the influence of different concentrations of magnesium citrate (100, 250 and 500 mg/kg body weight) on the lipid peroxidation processes and the activity of the antioxidant system in red blood cell of rats with experimental diabetes was conducted. Diabetes was caused by the single introduction of a 5% solution of alloxan monohydrate. The activity of the enzymes of antioxidant protection, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase and the content of reduced glutathione were studied in red blood cells. The increasing levels of lipid hydroperoxides and thiobarbituric acid reactive substances against the backdrop of decreased activity of enzymes of antioxidant protection was observed in rats with experimental diabetes. Magnesium citrate, which for four weeks, together with drinking water was added to the diet of the animals, showed a positive normalizing effect. Particularly, the contents of LPO and TBARS declined, and activity of antioxidant systems of protection increased significantly. Our data shows that the magnesium citrate supplements can partly restore the antioxidant parameters and reduce oxidative stress in rats with alloxan-induced diabetes.

Keywords: magnesium citrate, diabetes, antioxidant system.

УДК 616-006

О. Джус, асп., Л. Гарманчук, д-р биол. наук, О. Сторожук, студ.,
Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ,
В. Орисик, канд. хім. наук, Ю. Зборовський, канд. хім. наук, М.Вовк, д-р хім. наук
Інститут органічної хімії НАН України, Київ

ВПЛИВ N-ГІДРОКСИ-4-([[(E)-2ФЕНІЛЕТЕНИЛ]СУЛЬФОНІЛ]АМІНО)БУТАНАМІДУ НА ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ ТА АДГЕЗИВНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИН

Досліджено зміни показників клітинного циклу, адгезивних властивостей та морфологічних ознак на різних типах пухлинних клітин в моно шаровому, суспензійному та модельній системі сфероїдного росту за дії хімічно синтезованого похідного амінооцтової кислоти N-гідрокси-4-([[(e)-2-фенілетеніл] сульфоніл]аміно) бутанаміду, оборотного інгібітору матриксних металопротеїназ, що свідчать про можливий епітеліально-мезенхімальний перехід внаслідок підвищення адгезивних властивостей, – пригнічення сфероїдоутворення та зміни відсоткового співвідношення клітин у певних фазах клітинного циклу.

Ключові слова: N-гідрокси-4-([[(e)-2-фенілетеніл] сульфоніл]аміно) бутанамід, оборотні інгібітори матриксних металопротеїназ, епітеліально-мезенхімальний перехід, модельна система сфероїдного росту.

Вступ. Останніми роками у процесах метастазування все більше уваги приділяється епітеліально-мезенхімальному переходу (ЕПМ), який може генерувати механізми метастазування, у тому числі рухливість клітин, їх дедиференціювання, прогресію та резистентність пухлинних клітин до цитостатиків [1]. Міграція клітин регулюється спеціальними білками цитоскелету,

медіаторами, які виробляють клітини органа-мішені і екстрацелюлярний матрикс [2]. Для міграції клітин має значення активність матриксних металопротеїназ (ММР), що здатні сприяти ремоделюванню тканини за допомогою регуляції компонентів позаклітинного матриксу, а також сприяти, проліферації, диференціюванню клітин і ангиогенезу [3]. Варто зазначити, що при но-

рмальній регенерації тканин (наприклад, заживлення ран, ембріональний розвиток) та деяких патологічних процесах (наприклад, фіброз, канцерогенез) ЕМП та мезенхімально-епітеліальний перехід (МЕП) клітин є одними з основних процесів. ЕМП індукується екзогенними сигналами; це фактори росту (ендотеліальний, фактор росту гепатоцитів і фібробластів, інсуліноподібні, трансформуючі), ряд молекул позаклітинного матриксу (матриксні металопротеїнази, віментин, фібронектин та ін.), прозапальні цитокіни, тощо [4]. При канцерогенезі всі вище зазначені фактори ведуть до реалізації генетичної програми ЕМП, які, в свою чергу, активують ряд транскрипційних факторів (Snail, Twist, Slug, ZEB1, ZEB2, Lef-1 та ін.), які зв'язуються з промоторами генів, відповідальних за ЕМП. З іншого боку, інгібується експресія генів, що кодують білки щільних контактів (в тому числі E-кадгерин), знижуються їх адгезивні властивості та активуються транскрипційні фактори, – EPST1 (epithelial-stromal interaction 1). В результаті епітеліальні клітини набувають здатності до інвазії та міграції [5]. При міграції клітин в органи-мішені метастазування (для карциноми Льюїса це легені), відбувається зворотний процес – МЕП (реепітеліалізація). Основну роль в МЕП відіграє SNAI2, що є безпосереднім медіатором EGFR, який відіграє важливу роль в реепітеліалізації [6]. Таким чином, клітини набувають епітеліального фенотипу з підвищеною адгезією, прикріплюються до субстрату і можуть дати початок новому метастатичному вузлу. Серед інгібіторів МЕП використовують похідні гідроксамової кислоти, оборотні інгібітори металопротеїнази, зокрема відомий GM6001 (galdardin, ilomastat). Аніонний стан групи гідроксамової кислоти утворює двозубчастий комплекс з активним цинковим сайтом), – інгібітор широкого спектра MMP, який, як відомо, інгібує MMP1, MMP2, MMP3, MMP8, MMP9 [7], MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, і MMP-26 [8]. Слід відмітити, що висока біологічна активність гідроксамових кислот обумовлена їх здатністю утворювати комплексні сполуки з іонами біометалів. Координуючись з протеїновими фрагментами металовмісних ензимів, вони здатні зв'язувати в стійкі комплекси іони металів, що знаходяться в їх активному сайті [9]. Ряд природних і синтетичних гідроксамових кислот виявились інгібіторами цинк-залежних ензимів гістондеацетилази і матричних металопротеїнази і, як наслідок, ефективними антипроліферативними агентами [10; 11]. Деякі з цих сполук, зокрема субероанілідгідроксамова кислота (SAHA, Vorinostat) і Трихостатин А (Trichostatin A) знайшли практичне застосування в клінічній практиці в ролі протипухлинних препаратів [12; 13]. Слід зазначити, що модифікація гідроксамових кислот фармакофобними фрагментами призводить до синергічного ефекту їх активності. Тому в даній роботі ми використали для дослідження модифіковану гідроксамову кислоту.

Мета дослідження полягала у визначенні синтезованої нами сполуки N--гідрокси-4-(((e)-2-фенілетеніл)сульфоніл)аміно)бутанаміду – нового потенційного інгібітору матриксних металопротеїназ, на проліферативні та адгезивні показники пухлинних клітин.

Об'єкт і методи дослідження. Для дослідження було використано декілька ліній пухлинних клітин; Hela (рак шийки матки), Colo 205 (аденокарцинома товстого кишечника), MCF-7 (рак молочної залози) та первинну культуру перещеплюваної карциноми легень Льюїса (LLC). MCF-7 використовували із індукованим сфероїдним ростом за методом, описаним нами в попередній роботі [14]: для ініціації сфероїдного росту клітини лінії

MCF-7 інкубували за стандартних умов при t 37 °C, 5 % CO₂, 100% вологості в повному поживному середовищі у флаконах (25см², Nunc, Данія). Після досягнення клітинами моношарового росту їх знімали з використанням розчину Версена – 0,025 М ЕДТА з додаванням 0,25% розчину трипсину (Chemapol, Чехія), висаджували на чашки з малоадгезивними властивостями з початковою щільністю 50 тис. клітин/мл та додавали КМ-целюлозу до кінцевої концентрації 0,24%. Після цього клітини розсіювали в концентрації 2×10^5 кл/мл, після досягнення моношару додавали досліджувану речовину у концентрації 2×10^{-5} М та інкубували 72 години. Термін культивування був обраний у зв'язку з урахуванням мітотичного циклу досліджуваних клітин та їхнього переходу до стану проліферативного спокою. Після закінчення терміну інкубації клітини разом із середовищем інкубації відбирали, переосаджували центрифугуванням, визначали концентрацію живих клітин та співвідношення живих і мертвих після зафарбовування останніх трипановим синім. Морфологічний аналіз проводили за допомогою світлової мікроскопії, знімки були зроблені з використанням камери Canon та інвертованого мікроскопа Anxiovert 40.

Для визначення проліферативних показників використовували МТТ-тест [15] та цитофлуориметричний аналіз [16].

ДНК клітин для аналізу клітинного циклу та визначення рівня апоптозу фарбували флюорохромним барвником пропідієм йодидом (PI), що селективно з'єднується з інтеркалюючими сайтами в ДНК.

Фарбування клітин за допомогою флюорохромного барвника PI включало наступні етапи: клітини у кількості 106 на пробу після однократного відмивання в 5 мл забуференого фізіологічного розчину при 1000 об/хв протягом 10 хв ресуспендували в 1мл гіпотонічного лізуючого буфера (0,1 % цитрат натрія, 0,1 % Triton X-100, 5 мкг/мл PI). Всі реагенти фірми "Sigma Chemical Co", США. Після обережного струшування, клітини інкубували при t 22-25 °C протягом 30 хв у темряві. Для оцінки дольового вмісту клітин в основних фазах мітотичного циклу (G1/0, S, G2 + M) гістограми розподілу обробляли за допомогою спеціалізованої математичної програми ModFit LT 2.0 (BDIS, США) для комп'ютерів Macintosh. Всі проточно-цитофлуориметричні дослідження виконувалися на приладі FACS Calibur ("Becton Dickinson", США), що оснащений двома лазерами (з довжиною хвилі 488 та 625 нм), з використанням спеціалізованих математичних програм CellQuest та ModFit LT 2.0 (BDIS, США) для комп'ютерів Macintosh, для одержання та аналізу даних. Для виміру флуоресценції PI використовували вузькополосний фільтр 585/42 нм.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням "Origin 6,1" і t-критерія Стьюдента. Всі дані приведені у вигляді середніх арифметичних та стандартних відхилень.

Результати та їх обговорення.

N-гідрокси-4-(((e)-2-фенілетеніл) сульфоніл)аміно)бутанамід модифікує субстрат-залежний ріст та адгезивний потенціал пухлинних клітин і пригнічує їх проліферацію. До протипухлинних ефектів, які визначаються в скринінгових системах культивованих клітин відносять цитостатичну, проапоптотичну дію, контактне гальмування, а також залежність росту клітин від субстрату. Біологічну активність, згідно вищевказаних ефектів, тестували на первинній культурі перещеплюваної карциноми легень Льюїса (LLC), клітин раку шийки матки людини

Hela, клітин Colo205 та MCF-7. Показники визначали на модельній системі багатоклітинних пухлинних сфероїдів (3D-культури). Так, для клітин Hela та LLC було за-

фіксовано значне пригнічення проліферації за інкубації клітин протягом 3-х діб та зміна морфології клітин, що зображено на рисунку 1.

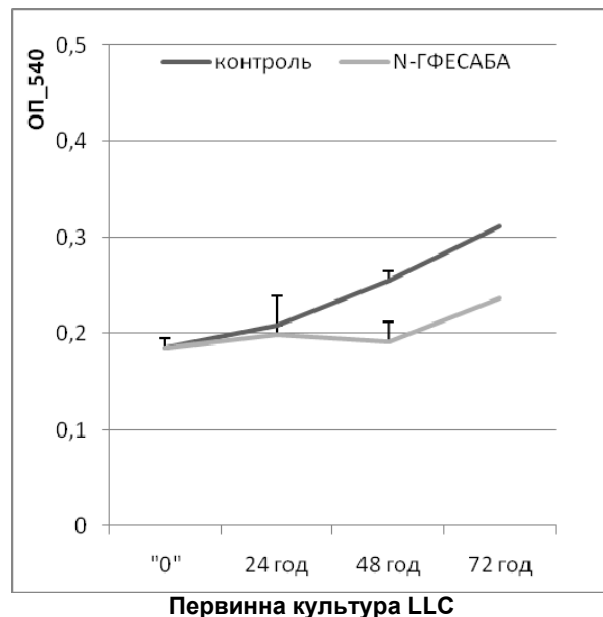
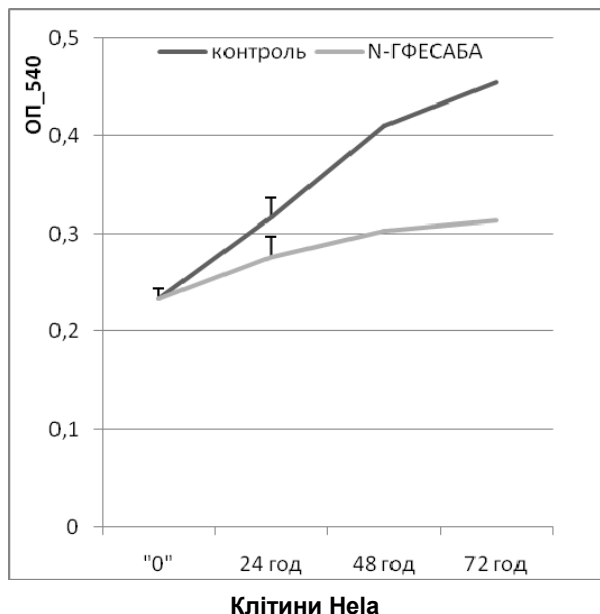
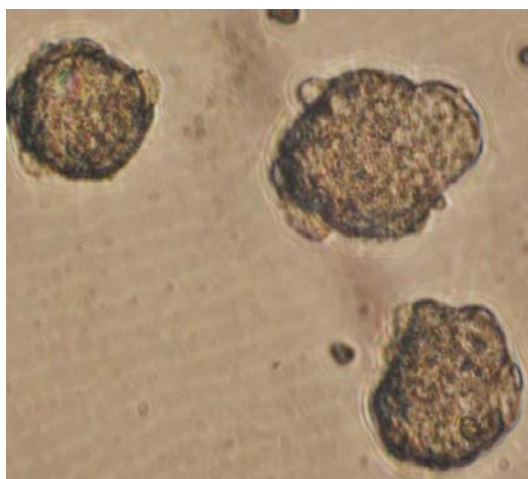


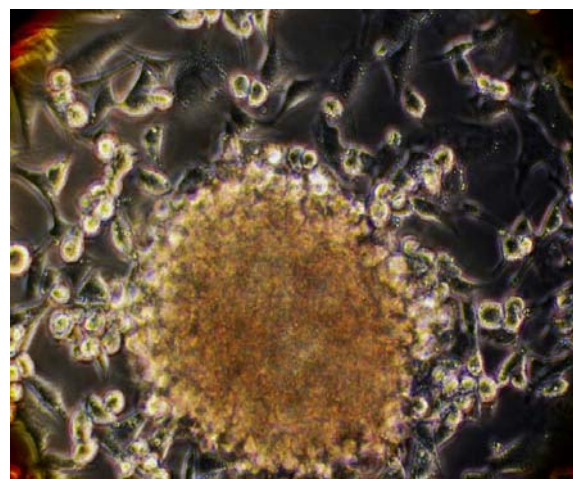
Рис.1. Криві росту клітин раку шийки матки Hela та карциноми легень Льюїс (LLC) в контролі та за впливу N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно) бутанаміду (на рис. 1,3 та 4 позначено як N-ГФЕСАБА)

Крім того, в попередніх дослідженнях ми виявили суттєвий вплив N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно) бутанаміду на клітинний цикл клітин Hela, що проявлялось в переході клітин в G0/G1 фазу та зміні їх морфології [17].

За впливу на клітини MCF-7 на модельній системі сфероїдного росту було показано зміну морфогенезу та перехід клітин в адгезивну фракцію, як видно із рисунку 2.



Контроль



Вплив N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно)бутанаміду

Рис.2. Морфогенез сфероїдів клітин MCF-7 в контролі та за дії N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно)бутанаміду. Збільшення – 320х

На даній модельній системі скринінгу згідно даних цитофлуориметричного аналізу було показано збільшення фракції клітин в фазі проліферативного спокою (2n2c) на 25% у порівнянні з контролем. При чому, за впливу N-гідрокси-4-({[(е)-2-фенілетенил] сульфоніл}аміно)бутанаміду спостерігалось достовірне зни-

ження більше ніж у 2 рази відсоткового вмісту клітин у фазі G2/M та на 18% у порівнянні з контролем у синтетичній S-фазі (2n4c), що свідчить про пригнічення проліферативної активності та збільшення адгезивного статусу внаслідок дії досліджуваної сполуки.

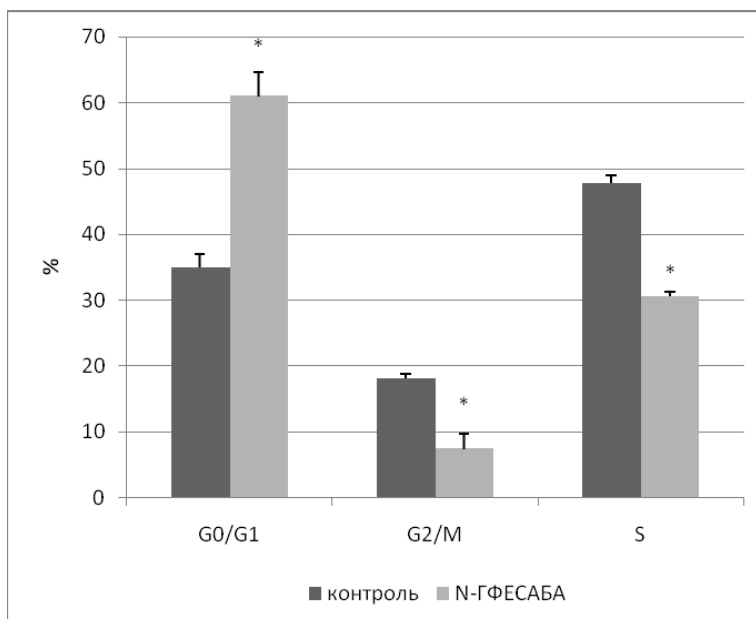


Рис.3. Відсотковий вміст клітин MCF-7 залежно від фаз клітинного циклу в контролі та за дії N-гідрокси-4-(((е)-2фенілетиніл) сульфоніл)аміно) бутанаміду після 72-годинної інкубації

*- $P \leq 0,05$; порівняно з контролем.

Клітини аденокарциноми товстого кишечника, епітеліального походження Colo-205 характеризуються поділом на дві основні субпопуляції за наявності глікопротеїну CD133, клітинного маркера дорослих стовбурових клітин та пухлинних стовбурових клітин, важливих в ініціації, розвитку пухлин та відповіді на терапію. Показано, що експресія гену CD133 у клітинній лінії Colo-205 призводить до активації генів, що беруть участь в клітинній проліферації, регуляції клітинного циклу, репа-

рації ДНК, транскрипції необхідних білків, антиапоптичній дії тощо [18]. При дослідженні впливу синтезованої нами речовини на рівень апоптозу лінії клітин Colo-205, було відмічено збільшення рівня апоптозу майже вдвічі у порівнянні з контролем, відсотковий вміст апоптичних клітин становив 37% та 19% відповідно (Рис.4). Отриманий результат може вказувати на перерозподіл субпопуляцій клітин в сторону пригнічення вмісту клітин з фенотипом CD133+.

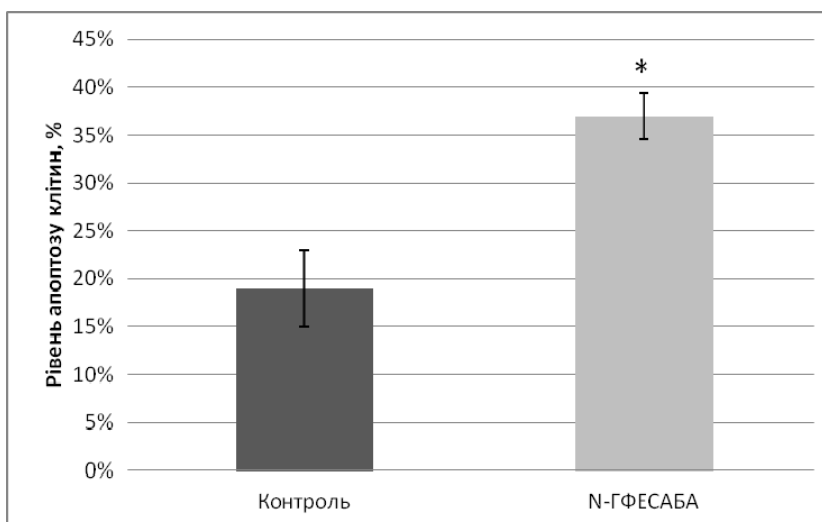


Рис.4. Рівень апоптозу клітин Colo-205 в контролі та за дії N-гідрокси-4-(((е)-2фенілетиніл) сульфоніл)аміно) бутанаміду

*- $P \leq 0,05$; порівняно з контролем

Отже, визначені ефекти N-гідрокси-4-(((е)-2фенілетиніл) сульфоніл)аміно) бутанаміду, оборотного інгібітора матричних металопротеїназ вказують на перспективність даної сполуки як антипроліферативного засобу та індуктора апоптозу з модифікуючим впливом на адгезію пухлинних клітин.

Висновки. Отримані експериментальні дані виявляють, що досліджувана сполука N-гідрокси-4-(((е)-

2фенілетиніл) сульфоніл)аміно) бутанамід модифікує субстрат-залежний ріст та адгезивний потенціал пухлинних клітин і пригнічує їх проліферацію. Вищезазначені дані дають змогу припускати, що досліджувана сполука повинна пригнічувати пухлиноутворення та метастазування, однак отримані результати потребують детального вивчення на моделях in vivo.

Список використаних джерел

1. Zimmerer R.M. Putative CD133+ melanoma cancer stem cells induce initial angiogenesis in vivo / R.M. Zimmerer, P. Matthiesen, F. Kreher [et al.]. // *Microvasc Res.* – 2016. – Vol. 104. – P. 46-54.
2. Gao T. The mechanism between epithelial mesenchymal transition in breast cancer and hypoxia microenvironment / T. Gao, J.Z. Li, Y. Lu, C.Y. Zhang, Q. Li, J. Mao, L.H. Li // *Biomed Pharmacother.* – 2016. Vol. 80. – P. 393-405.
3. Bellayr I. Matrix metalloproteinase inhibition negatively affects muscle stem cell behavior / I. Bellayr, K. Holden, X. Mu, H. Pan, Y. Li // *Int J ClinExpPathol.* – 2013. Vol.6, №2. – P.124-141.
4. Безденежних Н.О. Модифікація епітеліально-мезенхімального переходу в клітинах раку молочної залози внаслідок їх кокультивування з фібробластами та клітинами кісткового мозку // Н.О. Безденежних, Н.І. Семесюк, О.О. Лихова, В.Є. Жильчук, Ю.І. Кудрявець // *Онкологія.* – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 191-196.
5. Steinestel K. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition / K. Steinestel, S. Eder, A.J. Schrader, J. Steinestel // *Clin Transl Med.* – 2014.- Vol.2. – P.3-17.
6. Savagner P. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenomenon / P. Savagner // *AnnOncol.* – 2010. – Vol. 21. P.89-92.
7. Волоков К.С. Роль епітеліально-мезенхімального переходу в патогенезі заживлення кожних ран // К.С. Волоков, С.Б. Крамар. / *Morphologia.* – 2015. – Т. 9, №2. – С. 7-10.
8. Breschi L. Use of a specific MMP inhibitor (Galardin) for preservation of hybrid layer // L. Breschi, P. Martin, A. Mazzoni, [et. al.]. / *Dent Mater.* – 2010.
9. Almholt K. Metastasis is strongly reduced by the matrix metalloproteinase inhibitor Galardin in the MMTV-PyMT transgenic breast cancer model // K. Almholt, A. Juncker-Jensen, O. DidrikLærum, [et. al.]. / *Mol Cancer Ther.* – 2008. – Vol.7. – P. 2758.
10. Codd R. Traversing the coordination chemistry and chemical biology of hydroxamic acids // R. Codd. / *Coord.Chem. Rev.* – 2008. – Vol. 252, N 12-14. – P. 1387-1408.
11. Gupta S.P. QSAR studies on hydroxamic acids: A fascinating family of chemicals with a wide spectrum of activities. // S.P. Gupta. / *Chem. Rev.* – 2015. – Vol. 115, N 13. – P. 6427-6490.
12. Pal D., Saha S. Hydroxamic acid – A novel molecule for anticancer therapy // D. Pal, S. Saha. / *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* – 2012. – Vol. 3, N 2. – P. 92-99.
13. Mottamal M. Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for new medicine // M. Mottamal, S. Zheng, T.L. Huang, G. Wang. / *Molecules.* – 2015. – Vol. 20, N 3. – P. 3898-3941.
14. Zhao L. Effects of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) combined with paclitaxel (PTX) on paclitaxel-resistant ovarian cancer cells and insights into the underlying mechanisms // L. Zhao, Y. Tong, L. Yuanlin, L. Huaping, L. Chundong, Y. Zhao, Y. Zhang // *Cancer Cell Int.* – 2014.
15. L.V. Garmanchuk. In vitro 3D growth system – alternative to in vivo tumor growth model // L.V. Garmanchuk, L.B. Ostrovska, V.V. Nikulina [et al.]. / *Биофармацевтический журнал.* – 2014. – Т. 2, №6. – С.4-6
16. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays / T.Mosmann // *Journal of Immunological Methods.*-1983.- Vol. 65. – P. 55-63.
17. Nicoletti I. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry / I. Nicoletti, G. Migliorati, M.C. Pagliacci // *J. Immunol. Methods.* – 1991.- Vol.139, N 2. – P. 271-280.
18. Nikulina V. Cytostatic and pro-apoptotic effect of N-hydroxy-4-(((e)-2-phenylethenyl)sulfonyl)amino)butanamide on tumor cells / V.Nikulina, L. Garmanchuk, Y. Zborovski, V. Orisik, M. Vovk, S. Orisik, T. Nikolaenko, I. Babichuk, V. Pekhno // *European Journal of Cancer.* – 2016. – Vol.57. – P. 1-9.
19. Gao W. Isolation and phenotypic characterization of colorectal cancer stem cells with organ-specific metastatic potential. W. Gao, L. Chen, Z. Ma, Z. Du, Z. Zhao, Z. Hu, Q. Li // *Gastroenterology.* – 2013. – Vol. 145, N 3. – P. 636-646

Reference

1. Zimmerer RM, Matthiesen P, Kreher F, Kampmann A, Spalthoff S, Jehn P, et al. Putative CD133+ melanoma cancer stem cells induce initial angiogenesis in vivo. *Microvasc Res.* 2016;104:46-54
2. Gao T, Li JZ, Lu Y, Zhang CY, Li Q, Mao J, Li LH. The mechanism between epithelial mesenchymal transition in breast cancer and hypoxia microenvironment. *Biomed Pharmacother.* 2016;80:393-405.
3. Bellayr I, Holden K, Mu X, Pan H, Li Y. Matrix metalloproteinase inhibition negatively affects muscle stem cell behavior. *Int J ClinExpPathol.* 2013; 6(2): 124-41.
4. Безденежних Н.О., Семесюк Н.І., Лихова О.О., Жильчук В.Є., Кудрявець Ю.І. Модифікація епітеліально-мезенхімального переходу в клітинах раку молочної залози внаслідок їх кокультивування з фібробластами та клітинами кісткового мозку. *Онкологія.* 2013;15(3): 191-6.
5. Steinestel K, Eder S, Schrader AJ, Steinestel J. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition. *Clin Transl Med.* 2014;2:3-17.
6. Savagner P. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenomenon. *AnnOncol.* 2010;21:89-92.
7. К.С. Волоков, С.Б. Крамар. Роль епітеліально-мезенхімального переходу в патогенезі заживлення кожних ран. *Morphologia.* 2015;9(2):7-10.
8. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, et al. Use of a specific MMP inhibitor (Galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater.* 2010;26(6)
9. Almholt K, Juncker-Jensen A, DidrikLærum O, et al. Metastasis is strongly reduced by the matrix metalloproteinase inhibitor Galardin in the MMTV-PyMT transgenic breast cancer model. *Mol Cancer Ther.* 2008;7:27-58.
10. Codd R. Traversing the coordination chemistry and chemical biology of hydroxamic acids. *Coord.Chem.* 2008;252(12):1387-408.
11. Gupta SP. QSAR studies on hydroxamic acids: A fascinating family of chemicals with a wide spectrum of activities. *Chem. Rev.* 2015;115(13):6427-6490.
12. Pal D, Saha S. Hydroxamic acid – A novel molecule for anticancer therapy. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2012;3(2):92-99.
13. Mottamal M, Zheng S, Huang TL, Wang G. Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for new. *Molecules.* 2015;20(3):3898-3941.
14. Zhao L, Ying Tong, Yuanlin Liu, Huaping Liu, Chundong Li, Yue Zhao, Yi Zhang. Effects of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) combined with paclitaxel (PTX) on paclitaxel-resistant ovarian cancer cells and insights into the underlying mechanisms. *Cancer Cell Int.* 2014;14:112.
15. Garmanchuk LV, Ostrovska LB, Nikulina VV, et al. In vitro 3D growth system – alternative to in vivo tumor growth model. *Биофармацевтический журнал.* 2014;6(2):4-6.
16. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. *Journal of Immunological Methods.* 1983; 65:55-63.
17. Nicoletti I, Migliorati G, Pagliacci MC. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *J. Immunol. Methods.* 1991; 139(2): 271-280.
18. Nikulina V, Garmanchuk L, Zborovski Y, Orisik V, Vovk M, Orisik S, Nikolaenko T, Babichuk I, Pekhno V. Cytostatic and pro-apoptotic effect of N-hydroxy-4-(((e)-2-phenylethenyl)sulfonyl)amino)butanamide on tumor cells. *European Journal of Cancer.* 2016;57(1):9.
19. Gao W, Chen L, Ma Z, Du Z, Zhao Z, Hu Z, Li Q. Isolation and phenotypic characterization of colorectal cancer stem cells with organ-specific metastatic potential. *Gastroenterology.* 2013;145(3):636-46.

Надійшла до редколегії 20.04.16

Е. Джус, асп., Л. Гарманчук, д-р биол. наук, О. Сторожук, студ.
 Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ, Україна,
 В. Орыськ, канд. хим. наук, Ю. Зборовский, канд. хим. наук, М.Вовк, д-р. хим. наук
 Институт органической химии НАН Украины, Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ N-ГИДРОКСИ-4-(((E)-2-ФЕНИЛЭТЕНИЛ)СУЛЬФОНИЛ)АМИНО)БУТАНАМИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И АДГЕЗИВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КЛЕТОК

Исследованы изменения показателей клеточного цикла, адгезивных свойств и морфологических признаков на модельной системе сфероидного роста трансформированных клеток при воздействии химически синтезированного производного гидроксамовой кислоты N-гидрокси-4-(((e)-2-фенилэтиленил)сульфонил)амино)бутанамида, обратного ингибитора матричных металлопротеиназ, свидетельствующие о возможном эпителиально-мезенхимальном переходе вследствие повышения адгезивных свойств, ингибирования образования сфероидов и изменения процентного соотношения клеток в определенных фазах клеточного цикла.

Ключевые слова: N – гидрокси-4 – (((e) -2-фенилэтиленил)сульфонил)амино)бутанамид, обратные ингибиторы матричных металлопротеиназ, эпителиально-мезенхимальный переход, модельная система сфероидного роста.

O. Dzhush, PhD stud., L. Garmanchuk, DSc, O. Storozhuk, stud.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, Kyiv, Ukraine,
V. Orysyk, PhD, Y. Zborovsky, PhD, M. Vovk, DSc.
Institute of organic chemistry NAS of Ukraine, Ukraine, Kyiv, Ukraine

EFFECTS OF N-HYDROXY-4-({(E)-2-PHENYLETHENYL} SULFONYL)AMINO)BUTANAMIDE ON CELL CYCLE AND ADHESIVE PROPERTIES IN TUMOR CELLS

Using the model system of tumor spheroidal growth, we explored the main changes of the cell cycle parameters, adhesion properties and morphological features caused by action of a new chemically synthesized derivative of hydroxamic acid N-hydroxy-4-({(E)-2-phenylethenyl} sulfonyl)amino)butanamide, a reversible inhibitor of matrix metalloproteinases. The results of our studies, indicates that it is a possible epithelial-mesenchymal transition due to increased adhesive properties, inhibition of spheroid formation and changes in cells proportion in specific phases of the cell cycle.

Keywords: N – hydroxy-4 – ({(E)-2-phenylethenyl} sulfonyl) amino) butanamid, reversible inhibitors of matrix metalloproteinases, epithelial-mesenchymal transition, model system of spheroidal growth.

УДК 504.73.03:630*18:630*425:630*561.24 (477.60)

Н. Мірошник, канд. біол. наук
Інститут еволюційної екології НАН України, Київ

СТРУКТУРА ДЕНДРОФЛОРИ ТА ІНВАЗИВНА АКТИВНІСТЬ ВИДІВ-ІНТРОДУЦЕНТІВ ПРАВОБЕРЕЖЖЯ СЕРЕДНЬОГО ПРИДНІПРОВ'Я

Досліджено співвідношення типів стратегій Раменського – Грайма деревних рослин, що відображають ставлення їх до двох факторів – забезпеченості ресурсами і порушеності місцезростань. Переважають види зі вторинною стратегією віоленти-патієнти (47–65%), особливо у захисних лісах та узлісних паркових насадженнях. Це стійкі до стресу, нестачі ресурсів та конкурентно сильні види *Quercus rubra* L., *Carpinus betulus* L., *Corylus avellana* L., *Acer campestre* L., *A. platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L. На другому місці за кількістю види з первинною стратегією стрес-толеранти *Acer tataricum* L., *Sambucus racemosa* L., *Genista tinctoria* L., *Aesculus hippocastanum* L.

Ключові слова: дендрофлора, лісові екосистеми, біоморфи, екоморфи, стратегії видів, антропогенний вплив.

Вступ. В умовах антропоцентричної парадигми раціонального природокористування істотно зростає тривалий негативний вплив людської діяльності на навколишнє природне середовище (НПС), спричиняючи критичний стан екосистем, низку екологічних катаклізмів на місцевому, регіональному та глобальному рівнях [13]. Інтенсивне використання природних ресурсів з недостатніми оцінками, обліком та збереженням спричинило деградацію лісових екосистем, зниження їх екологічної ролі, зменшення біотичного та ландшафтного різноманіття. Основну загрозу біорізноманіттю становлять діяльність людини, знищення нею оселищ існування флори і фауни, інвазії неаборигенних організмів. Особливо значні втрати біорізноманіття і самих екосистем у лісових насадженнях, зокрема в зелених зонах навколо населених пунктів, що за останні 2 століття, є одним з вирішальних чинників швидких темпів опустелювання, деградації ландшафтів, глобальних змін клімату [8, 16]. Тому важливим є дослідження, збереження і відновлення лісових екосистем.

В умовах Правобережжя середнього Придніпров'я досліджено стан лісових екосистем [13, 18, 31], фітозабруднення [9, 22], наведено деякі аспекти таксономічної структури дендрофлори [27, 28], оцінено стан та видовий склад паркових насаджень та об'єктів природно-заповідного фонду [32].

Водночас нами вивчено біоморфологічну, екологічну структуру дендрофлори регіону, розповсюдження, активності, стратегії адвентивних видів. Доповнено дані досліджень 2010 р. [17, 18] щодо складу та структури дендрофлори регіону, що і було **метою роботи**.

Матеріали і методи. Згідно з геоботанічним районуванням території України [5], Черкаська область, у межах якої здійснювали дослідження, входить до Європейсько-Сибірської лісостепової області, Східноєвропейської провінції, Середньо-придніпровської та Лівобережно-придніпровської підпровінцій, Черкасько-Чигиринського та Єлизаветградсько-Онуфріївського районів. Регіон входить до одного з основних екокоридорів Національної екомережі України (меридіональний

Дніпровський і широтний Галицько-Слобожанський). Тривале господарське освоєння території та розвиток сільського господарства спричинили суттєву антропогенну трансформацію флори та рослинності. До значної порушеності екосистем призвели утворення Кременчуцького водосховища, осушення боліт, велику частку в антропогенному впливі складає також рекреаційне навантаження на лісові екосистеми (пошкодження рослин, витогування, ущільнення ґрунтів, несанкціоновані вирубки насаджень, пожежі, стихійні сміттєзвалища) та аеротехногенні викиди підприємств промислової зони м. Черкаси, які ослаблюють лісові екосистеми, призводять до їх ушкодження, розповсюдження шкідників, хвороб, перебудови усередині екосистем, фітоінвазій [13]. Як наслідок, тут тривають процеси синантропізації та адвентизації рослинного покриву, а також посилення інвазійного потенціалу видів, які виступають як едифікатори. Сприяють поширенню фітоінвазій також великі міста, які розташовані поблизу (Київ, Черкаси, Кременчук, Світловодськ, Комсомольськ), наявна мережа транспортних шляхів, зокрема водних (р. Дніпро та її притоки, Кременчуцьке водосховище) [22].

Промислове навантаження, не зважаючи на кризу економіки, у Черкаській області є значним: 2014 р. до її повітряного басейну від усіх антропогенних джерел надійшло 136,6 тис. т шкідливих речовин, що становить близько 20,6% від загальнодержавних обсягів викидів. Щорічна щільність шкідливих викидів на природні екосистеми Черкаської області досягає 3,2 т/км² [25]. Особливо значні викиди фітотоксикантів – SO₂, NO_x, які пригнічують розвиток дерев, спричиняють хлорози, некрози, дефоліацію крон та сприяють розповсюдженню шкідників та хвороб [12, 15].

Досліджували вплив комплексного антропогенного навантаження на дендрофлору лісових екосистем методами лісівництва, порівняльної екології [3], геоботаніки [1, 3, 21]. Стан деревостанів визначали за [3, 26]. Біоморфологічна структура наведена за І.Г. Серебряковим (Серебряков, 1962). Екоморфічний аналіз здійснювали за методиками [1, 29] з доповненнями за [10]. Типи екологічних стратегій описували за схемою Ра-