

9. Jacobson E.S. Relationship between superoxide dismutase and melanin in pathogenic fungus / E.S. Jacobson, N.D. Jenkins, J.M. Tood // Infect. Immun. – 1994. – P.4085-4086.

10. Williamson P.R. Laccase and melanin in the pathogenesis of *Cryptococcus neoformans* / P.R. Williamson // Front Biosci. – 1997. – №10. P. 99-107.

11. Аверьянов А.А. Влияние меланина на цитотоксичность кислородных радикалов / А.А. Аверьянов, В.П. Лапикова, Г.Г. Петелина // Биохимия. – 2009. – №4. – С.1539-1546.

12. Rosa L.H. Endophytic fungi community associated with the dicotyledonous plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae) in Antarctica / L.H. Rosa // FEMS Microbiol. Ecol. – 2010. – P.178-189.

13. Zhdanova N.N. Fungi from Chernobyl: mycobiota of the inner regions of the containment structures of the damaged nuclear reactor / N.N. Zhdanova [et al.] // Mycology Research. – 2000. – P.1421-1426.

14. Горчакова Л. А. Адаптогенный вплив фітомеланіну при дії іонізуючого опромінення та стресу / Л.А.Горчакова, Л.П. Дерев'яно, М.Ю. Скачек // Вісник наукових досліджень. – 1999. – № 2. – С. 23-27.

15. Mueller P. Methods for the formation of single bimolecular lipid membranes in aqueous solution / P. Mueller [et al.] // Nature. – 1962. – P. 976-983.

16. Chen Z. Appressorium turgor pressure of *Colletotrichum kahawae* might have a role in coffee cuticle penetration / Z. Chen // Mycologia. – 2004. P.1199-1208.

Надійшла до редколегії 20.02.14

Д. Голышкин, асп, В. Рыбальченко, д-р биол. наук, А. Бычко, канд. биол. наук, Т. Береговая, д-р биол. наук, Т. Фалалеева, д-р биол. наук КНУ имени Тараса Шевченко, Киев

ВЛИЯНИЕ МЕЛАНИНА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МОДЕЛЬНЫХ БИЛИПИДНЫХ МЕМБРАН (IN VITRO)

Изучить дозозависимое влияние меланина на проводимость и электрическую емкость модельных билипидных мембран (*in vitro*). Дозозависимый эффект определяли методом анализа нестандартных циклических вольт-амперных характеристик бимолекулярных липидных мембран (БЛМ). Электрические параметры БЛМ, а именно электрическую проводимость и электрическую емкость определяли по изменению потенциала на мембране. Впервые установлено непосредственное влияние меланина на структуру липидного матрикса клеточных мембран. Показано дозозависимое мембранотропное влияние меланина, которое реализуется путем повышения проводимости и уменьшения электрической емкости липидного бислоя. Это свидетельствует о уменьшении толщины изоляционной зоны мембраны в условиях воздействия меланина. Меланин проявляет мембранотропную активность, которая реализуется путем повышения проводимости и уменьшения электрической емкости липидного бислоя. Наиболее выраженное влияние меланина на электрические характеристики билипидных мембран реализуется при концентрации 10^{-6} М.

Ключевые слова: меланин, бимолекулярная липидная мембрана, электропроводимость, электрическая емкость.
D. Golyshkin, Phd stud, V. Rybalchenko, DSc, A. Bychko, PhD., T. Beregova, DSc, T. Falalyeyeva, DSc
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

INFLUENCE OF MELANIN ON ELECTRICAL CHARACTERISTICS OF MODEL BILIPID MEMBRANES (IN VITRO)

To examine dose-dependent effects of melanin on conductance and electrical capacity of model bilipid membranes (*in vitro*). Dose-dependent effects were studied on bilayer lipid membranes (BLM) by volt-ampere characteristic method. Both BLM electrical parameters of conductance and electrical capacity were measured by the change in the membrane potential. For the first time direct influence of melanin on cell membrane's bilayer lipid matrix was estimated. It was established dose-dependent membranotropic influence of the melanin that was realized by conductance increasing of BLM and by decreasing of membrane capacity. It testifies decreasing of membrane's insulating zone under melanin's influence. Melanin shows membranotropic activity which is realized by increasing conductivity and decreasing electrical capacitance of the lipid bilayer. The most pronounced melanin's effect on the bilipid membranes electrical characteristics is realized at 10^{-6} M.

Key words: melanin, bimolecular lipid membranes, conductivity, capacity.

УДК 616.4: 577.152

Л. Гарманчук, д-р біол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ВИЗНАЧЕННЯ ПОГЛИНАННЯ ГЛЮКОЗИ ПУХЛИННИМИ КЛІТИНАМИ ЗА СТАНДАРТНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ ТА ПІД ВПЛИВОМ ПРОТИПУХЛИННИХ ПРЕПАРАТІВ

Адаптовано глюкозооксидантний метод визначення глюкози в сироватці крові для оцінки концентрації поглинутої глюкози культивованими пухлинними клітинами. Для цього підраховували живі клітини на різних етапах їх культивування та за різницею концентрації глюкози в середовищі культивування без клітин визначали рівень поглинутої глюкози в розрахунок на одиницю клітин. Метод є економічно доцільним, швидко відтворюваним та високочутливим і може використовуватись в скринінгових тестах *in vitro* щодо впливу різних лікарських препаратів на залучення глюкози в метаболічні шляхи. Показано, що алкілюючий препарат цисплатин та герцептин (гуманізовані моноклональні антитіла проти рецептора епідермального фактора росту II типу) мають протилежний вплив на рівень поглинання глюкози в залежності від терміну інкубації з клітинами та типом клітин.

Ключові слова: сироватка крові, тест-системи, протипухлинні препарати.

Вступ. Альтернативні методи скринінгу на різних типах культивованих клітин передбачають визначення широкого спектру параметрів, які можуть вказувати на механізми дії досліджуваних агентів. На сьогодні розроблено правила стандартизації якості культури клітин і тканин для дослідження ефективності лікарських препаратів та впроваджені Європейським центром валідації альтернативних методів принципи Належної лабораторної практики (GLP) [1-2]. Впровадження даних методів дослідження спонукає до пошуку простих, доступних та економічно-доцільних методів визначення параметрів функціонування клітин за дії різних сполук, включаючи тестування протипухлинної активності потенційних лікарських засобів, у доклінічних дослідженнях яких суттєву нішу займають панелі культивованих

трансформованих клітин [1-4]. Параметри, за якими оцінюється функціональний стан трансформованих клітин стосуються не лише проліферативних/ антипроліферативних показників, експресії/репресії певних генів, а й таких функціонально значимих характеристик – як метаболічні [5-7]. Відомо, що пухлинні клітини отримують енергію шляхом гліколізу і перехід на безкисневу енергетику призводить до автономного та неконтрольного їх росту. Важлива роль метаболітів гліколітичного шляху поповнення енергії за канцерогенезу визначається тим, що до участі регуляції обміну глюкози, залучені шляхи передачі онкогенних та антиапоптичних сигналів, активація ангиогенезу та міграційна здатність пухлинних клітин [5]. Варбургом, ще в 1924 р. було встановлено, що у зрізах пухлинних тканин продукція лакта-

ту більша, в порівнянні з нормальними тканинами [8-9]. Цей факт спостерігався як в анаеробних, так і в аеробних умовах, тоді як дихання в пухлинах кількісно не зменшувалося і ефект Пастера (пригнічення гліколізу диханням) не знімався. В численних дослідженнях показано, що пухлинні тканини здатні утилізувати і перетворювати до лактату значно більше глюкози, аніж нормальні [8-13]. Це є однією з найбільш характерних властивостей пухлин, що стала відправною точкою для розвитку численних досліджень як фундаментального, так і прикладного характеру. Загальним підсумком є доказ того, що існує пряма кореляція між швидкістю росту експериментальних пухлин, ступенем їх розвитку та величиною анаеробного гліколізу. Слід зазначити, що досить інтенсивний гліколіз, зокрема аеробний, має місце в нормальних тканинах і клітинах – лімфатичних вузлах, ембріональній тканині, слизовій оболонці кишечника, сітківці ока, сперматозоїдах, гранулоцитах тощо [8, 9]. Але пухлинні клітини утилізують глюкозу зі значно більшою швидкістю, навіть в аеробних умовах, при цьому поглинання кисню гліколізом пригнічується [12]. Посилений аеробний гліколіз являє собою унікальне явище для пухлин. Він індукований майже у всіх злоякісних новоутвореннях, а його активність зростає із збільшенням ступеня злоякісності пухлини. Аеробний гліколіз в пухлинних клітинах розглядається як механізм, що надає їм захист від активних форм кисню, що утворюються при інтенсивній проліферації та в екстремально лужному позаклітинному мікрооточенні, а також надає можливість пухлинним клітинам проникати в навколишні нормальні тканини [14]. Вищесказане відносить аеробний гліколіз до важливих маркерів пухлини незалежно від природи тканини, з якої вона утворилася, та її генетичних особливостей [8-12]. В клітину глюкоза потрапляє завдяки транспортерам глюкози (GLUT1, GLUT4, GLUT5, GLUT8, GLUT12) та Na^+ -котранспортеру [15,16], з яким може бути пов'язана зміна щільності заряду пухлинних клітин. Показано, що в деяких пухлинних клітинах починають експресуватись та функціонувати потенціал залежні Na^+ -канали, роль яких особливо важлива за міграції клітин. Таким чином, зміна щільності заряду клітини може бути пов'язана як із активністю потенціал залежних Na^+ -каналів, так і зі зміною в активності Na^+ /глюкозного котранспортеру. Можливо, що зміна у транспорті глюкози впливає через Na^+ /глюкозний котранспортер на заряд клітин, а можливо, що саме заряд клітин впливає на транспорт глюкози, і через зміну заряду знижується споживання глюкози. Тому, визначення поглинання глюкози пухлинними клітинами є важливим показником в дослідженнях впливу на пухлинні клітини. Існуючі на сьогодні методи визначення метаболізму глюкози в клітинах є достатньо дорогими та довготривалими, а біосенсорні розробки знаходяться на стадії впровадження [17].

Мета роботи полягала у адаптації ефективного та малозатратного клінічного методу оцінки рівня глюкози до виміру даного показника в системі *in vitro* для визначення рівня глюкози в клітинах, культивованих в стандартних умовах інкубації, безсировоткових та за впливу протипухлинних препаратів цисплатину та герцептину.

Матеріали та методи дослідження. В дослідженнях було використано наступні клітинні лінії: MCF-7 (аденокарцинома молочної залози), Hela (рак шийки

матки), які культивували за стандартних умов при 37°C, 100% вологості, 5% CO_2 в середовищах DMEM та RPMI, з додаванням 10-15% ембріональної телячої сироватки (FBS) та в безсировоткових умовах. В якості антипроліферативних засобів використовували моноклональні антитіла до рецептора епідермального фактора росту II типу (комерційна назва Герцептин), та класичний цитотоксичний протипухлинний препарат цисплатин з алкільючим механізмом дії. Клітини культивували протягом 2-3 діб, в кожному із досліджуваних термінів визначали концентрацію клітин, а в середовищі інкубації клітин визначали рівень глюкози. Концентрацію та виживаність клітин визначали за рутинним підрахунком в камері Горяєва після зафарбовування клітин вітальним барвником трипановим синім. Концентрацію глюкози в середовищі інкубації клітин визначали з використанням глюкооксидазного методу [18, 19], що застосовується в клінічній лабораторній діагностиці для оцінки рівня глюкози в сироватці крові (Філісит-Діагностика, Україна). Метод ґрунтується на тому, що глюкоза в присутності глюкооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти і перекису водню, який в присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично при довжині хвилі 550 нм. Вимірюють оптичну щільність калібрувального розчину ($E_{\text{кал}}$) та дослідної проби ($E_{\text{досл}}$), проти холостої проби. Забарвлення залишається стабільним протягом 60 хв. Розрахунки концентрації глюкози проводяться за формулою:

$$C = 10,0 \times K \times E_{\text{досл}} / E_{\text{кал}} \text{ (ммоль/л)}, \text{ де}$$

C – концентрація глюкози в дослідній пробі, ммоль/л; 10,0 – концентрація глюкози в калібрувальному розчині, ммоль/л; $E_{\text{досл}}$ – оптична щільність дослідної проби, $E_{\text{кал}}$ – оптична щільність калібрувальної проби; K – коефіцієнт розведення.

Поглинання глюкози клітинами розраховували через різницю у концентрації глюкози в середовищі культивування та концентрації глюкози в середовищі після інкубації клітин, отримані дані розраховували на кількість живих клітин. Статистичний аналіз проводили з використанням критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Для оцінки адекватності методу визначення глюкози, який широко застосовується в лабораторній клінічній діагностиці щодо можливості його використання для виміру рівня поглинання глюкози пухлинними клітинами в системі *in vitro*, було відпрацьовано мікрометод на середовищах культивування клітин таких як MEM, DMEM, RPMI, F-12 (Sigma, США) з додаванням FBS або без сироватки. Згідно сертифікатів фірми виробника ці середовища містять різну концентрацію глюкози, $5,6 \times 10^{-3}$, $2,5 \times 10^{-2}$, $1,1 \times 10^{-2}$, $1,0 \times 10^{-2}$ М, відповідно. Також наявність в складі середовищ деяких амінокислот (наприклад, L-глутаміну) може вносити додаткові показники при визначенні глюкози запропонованим методом. Для побудови калібрувальної кривої нами було проведено розведення середовищ культивування фізіологічним розчином. Як свідчать наведені дані (табл.1), при розведенні середовищ інкубації концентрація глюкози, визначена за мікрометодом пропорційно знижувалась.

Таблиця 1. Визначення глюкози в середовищі культивування клітин глюкозооксидантним методом

Середовище культивування	Тип середовища та концентрація глюкози, М			
	MEM	DMEM	RPMI	F-12
Не розведене	3.1×10^{-2}	7.8×10^{-2}	5.5×10^{-2}	4.8×10^{-2}
Розведення 1:2	1.7×10^{-2}	4.3×10^{-2}	3.3×10^{-2}	2.2×10^{-2}
Розведення 1:4	9.5×10^{-3}	1.9×10^{-2}	2.3×10^{-2}	1.5×10^{-2}
Розведення 1:8	4.1×10^{-3}	1.1×10^{-2}	9.5×10^{-3}	8.4×10^{-3}
Розведення 1:16	2.7×10^{-3}	4.2×10^{-3}	6.3×10^{-3}	5.0×10^{-3}

Дані наведені в таблиці свідчать, що глюкозооксидантний метод з використанням набору реактивів фірми Філісіт-Діагностика (Україна) є чутливим в діапазоні показників глюкози 2.7×10^{-3} – 7.8×10^{-2} моль/л, що знаходиться в діапазоні концентрацій рекомендованих інструкцією виробника для оцінки глюкози в біологічних рідинах. Більше того, при 8-ми та 16-ти-кратному розведенні середовищ інкубації нам вдалось зафіксувати концентрацію глюкози в нижньому діапазоні, ніж рекомендовано фірмою виробником.

Після попередніх досліджень щодо можливості оцінки рівня глюкози запропонованим методом в різних типах середовищ, які використовуються для інкубації клітин, було проведено визначення даного показника в кондиційованому середовищі клітин. З цією метою використовували дві лінії пухлинних клітин Hela та MCF-7. Для культивування клітин Hela згідно сертифіката міжнародного банку клітинних культур (ATCC) використовували середовище RPMI з додаванням 10% FBS, для клітин MCF-7 – DMEM з 15% FBS, а також індукували

дефіцит ріст-стимулюючих факторів культивування клітин в безсировоткових середовищах. Після 2-х добового культивування було виявлено, що за безсировоткових умов поглинання глюкози клітинами Hela суттєво збільшується в порівнянні з стандартними умовами з використанням сироватки та зростає через 48 годин інкубації (рис.1). Дані представлені у вигляді різниці між концентрацією глюкози в середовищі інкубації з клітинами та середовищем у якості контролю. Одиниці виміру, представлені в роботі – нМ/1000 клітин. Збільшення поглинання глюкози пухлинними клітинами за безсировоткових умов також було характерним при культивуванні клітин MCF-7, як порівняно з стандартними умовами, так і в залежності від терміну інкубації (рис.2). Як видно, із представлених даних, за стандартних умов культивування різниця в рівні поглинутої глюкози із розрахунку на концентрацію живих клітин не значна, хоча проліферативний індекс цих клітин пропорційно наростає з подовженням терміну інкубації (дані не наведено).

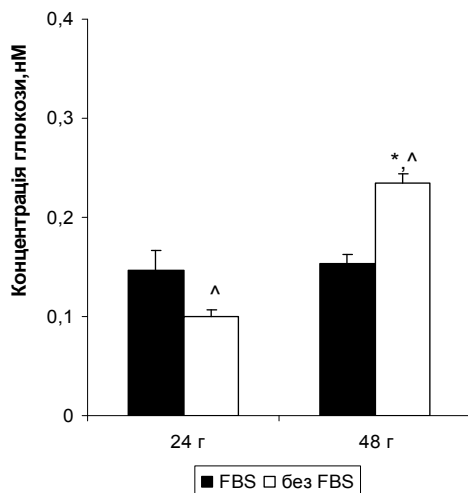


Рис. 1. Рівень поглинутої глюкози клітинами Hela за різних термінів культивування в стандартних (RPMI, з додаванням 10% FBS) та безсировоткових умовах культивування. Концентрація поглинутої глюкози у зразках розрахована на 1000 живих клітин

Підвищення поглинання глюкози для обох досліджуваних типів клітин за безсировоткових умов культивування обумовлено їх здатністю до посиленої проліферації та формуванням резистентності до несприятливих умов мікрооточення. Синтез АТФ при гліколізі проходить значно швидше і залежить, майже виключно, від надходження у клітину глюкози, тоді як в реакціях окисного фосфорилування утворення АТФ обмежено повільним транспортом НАДН з цитозолу до електроно-транспортного ланцюга мітохондрій.

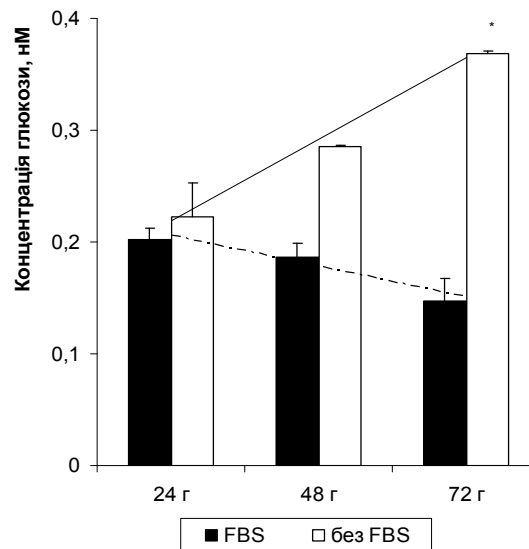
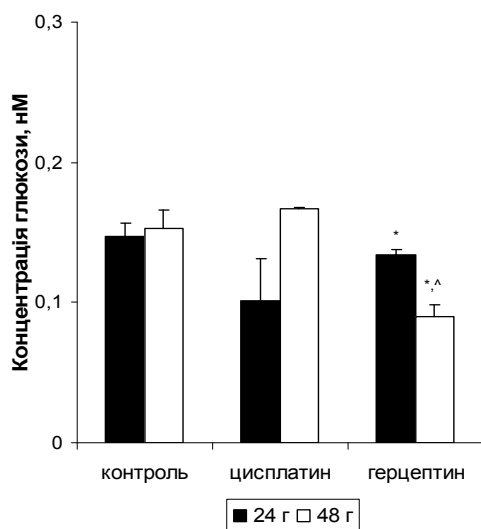


Рис. 2. Рівень поглинання глюкози клітинами MCF-7 за різних термінів культивування в стандартних (DMEM, з додаванням 15% FBS) та безсировоткових умовах культивування. Концентрація поглинутої глюкози у зразках розрахована на 1000 живих клітин

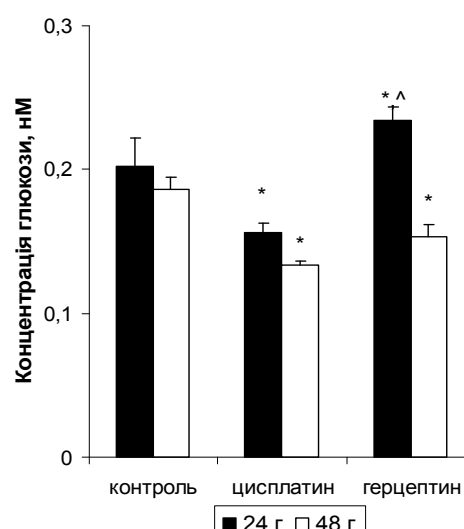
Наступним етапом було визначення впливу протипухлинних препаратів на показник поглинутої глюкози культивованими клітинами. Для цього додавали до клітин цисплатин та герцептин, культивували протягом двох діб та визначали рівень поглинання глюкози за впливу цих препаратів (Рис.3) Як видно із представлених гістограм, додавання протипухлинних препаратів проявлялось зміною показника поглинутої глюкози, який в основному залежав від терміну культивування препаратів з клітинами. Так, цисплатин не впливав на рівень поглинання глюкози клітинами Hela за стандарт-

них умов культивування на 24 та 48 години дії препарату, тоді як по відношенню до клітин MCF-7 цисплатин знижував рівень поглинання глюкози в 1,3 та 1,4 рази ($p < 0,05$) на 24 та 48 годину, відповідно. Стосовно, герцептину, то по відношенню до клітин Hela на 24 годину виявлено незначне пригнічення рівня поглинання глюкози (в 1,1 рази), а на 48 годину дії препарату в 1,7 рази ($p < 0,05$) порівняно з контролем; також виявлено 1,8-кратне ($p < 0,05$) зниження поглинання глюкози за дії герцептину, порівняно з цисплатиною. По відношенню до клітин MCF-7 герцептин знижував рівень поглинання глюкози на 48 годину інкубації та підвищував даний показник на 24 години інкубації, порівняно з контролем. Такі не односпрямовані впливи досліджуваних лікарських препаратів на рівень поглинання глюкози пухлинними клітинами можливо залежать від різних чинників: механізму протипухлинної дії – для алкілюючого препарату цисплатину механізм дії пов'язаний зі здатністю незворотно інгібувати синтез ДНК в клітинах та індуку-

вати апоптоз; для герцептину – препарату таргетної терапії – механізм дії пов'язаний з пригніченням проліферації клітин з гіперекспресією рецепторів родини епідермального фактора росту, що опосередковано антитіло-комплімент залежною цитотоксичністю та безпосереднім блокуванням проліферації та індукцією апоптозу в HER2/neu позитивних клітинах; наявність молекулярних мішеней впливу цих препаратів на певних типах клітин – MCF-7 мають вищу експресію рецептора HER2/neu, порівняно з клітинами Hela, а також експресію в даних типах клітин відповідних транспортерів глюкози. Оскільки, для глюкози властиві всі переваги "авральної" регуляції – швидке проникнення через клітинну мембрану за градієнтом концентрації, утилізація зі швидким утворенням енергії за відсутності кисню, то для пухлинних культивованих клітин за дії різних впливів визначення рівня поглинутої глюкози є маркерним показником їх метаболізму.



Клітини лінії Hela (RPMI, 10% FBS)



Клітини лінії MCF-7 (DMEM, 15% FBS)

Рис.3. Рівень поглинання глюкози клітинами за впливу цисплатину та герцептину за стандартних умов культивування

Висновок. Таким чином, визначення глюкози, яка залучається в метаболізм культивованих клітин за впливу різних умов культивування та за дії протипухлинних препаратів з використанням діагностичного клінічного набору Філісіт-Діагностика, (Україна) дозволило адаптувати даний метод як мікрометод для тестування глюкози – основного енергетичного субстрату в скринінгових системах з використанням культивованих клітин *in vitro*.

Список використаних джерел

1. Coecke S, Balls M, Bowe G, Davis J, Gstraunthaler G, Hartung T, Hay R, Merten OW, Price A, Schechtman L, Stacey G, Stokes W Guidance on good cell culture practice. // Altern Lab Anim. – 2005. – 33. – P.261–287.
2. Alley M.C., Scudiero D.A., Monks P.A. Hursey M.L., Czerwinsky M.J., Fine D.L., Abbott B.J., Mayo J.G., Shoemaker R.H., Boyd M.R. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay // Cancer Research. – 1988. – 48. – P.589-601.
3. Boyd M Status of NCI. Preclinical antitumor drug discovery screen. // Principles and practice of oncology. – 1989. – v.3, N10. – P.1-12.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств// Под ред. Фисенко В.П., Арзамасцева Е.Б., Бабаян Э.А., Булаева В.М., и др./ ЗАО "ИИА Ремедиум", Москва. – 2000. – С.450.
5. Jiang X., Kenerson H.L., Yeung R.S. Cell Biosci. Glucose deprivation in tuberous sclerosis complex-related tumors//2011. – Vol. 21. – P.34.
6. Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications// Drug Resist Updat. – 2004. – Vol. 7. – P. 97–110.

7. Annibaldi, A., Widmann, C. Glucose metabolism in cancer cells// Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care. – 2010. – Vol.13. – P.466–470.
8. Pavlides S, Whitaker-Menezes D, Castello-Cros R. The reverse Warburg effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma// Cell Cycle. – 2009. – Vol. 8(23). – P.398-400.
9. A. Vazquez, J. Liu, Y. Zhou. Catabolic efficiency of aerobic glycolysis: The Warburg effect revisited//BMC Systems Biology. – 2010. – Vol. 8(5). – P.1065-73.
10. Vazquez A, Oltvai Z N. Molecular crowding defines a common origin for the Warburg effect in proliferating cells and the lactate threshold in muscle physiology// PLoS One. – 2011. – Vol. 29; 6. – P. 38-40.
11. Smallbone K, Gatenby RA, Gillies RJ, Maini PK, Gavaghan DJ: Metabolic changes during carcinogenesis: potential impact on invasiveness// J Theor Biol. – 2007. – Vol. 244(4). – P.703-713.
12. Gatenby R.A., Smallbone K. Cellular adaptations to hypoxia and acidosis during somatic evolution of breast cancer//J Cancer. – 2007. – Vol. 3; 97 (5). – P.646-53.
13. E. I. Chen, J.Hewel, Joseph S. Krueger, et al. Adaptation of Energy Metabolism in Breast Cancer Brain Metastases; // Cancer Res. – 2007. –67 – P.1472-1486.
14. Carlsson J., Acker H. Relations between pH, oxygen partial pressure and growth in cultured cell spheroids // Int. J.Cancer. – 1988. – Vol. 42. – P. 715-720.
15. Wood I.S., Tryhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): Expanded families of sugar transport proteins. // Br J Nutr. – 2003. – V.89. – P.3–9. [PubMed: 12568659]
16. Lee W.S., Kanai Y., Wells R., Hediger M. The high affinity Na⁺/glucose cotransporter. // J Biol Chem. – 1994. – V.269. – P.12032–12039.
17. J. D. Newman and A. P. F. Turner (2005) Home blood glucose biosensors: a commercial perspective.// Biosensors and Bioelectronics. – 2005. – V20. – P.2435-2453.

18. Barham D., Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system // Analyst. – 1972. – V.97. – N151. – P.142-5.

19. Blaedel W.J., Uhl J.M.. Nature of materials in serum that interfere in the glucose-oxidase-peroxidase-0-dianisidine method for glucose, and their mode of action.// Clin Chim. – 1975. – V.21. – P.119–24.

Надійшла до редколегії 16.04.14

Л. Гарманчук, д-р биол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОГЛОЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ В СТАНДАРТНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Адаптировано глюкозооксидантный метод определения глюкозы в сыворотке крови для оценки концентрации поглощенной глюкозы культивируемыми опухолевыми клетками. Для этого подсчитывали живые клетки на разных этапах их культивирования и по разнице концентрации глюкозы в среде культивирования без клеток определяли уровень поглощенной глюкозы в расчете на единицу клеток. Метод является экономически целесообразным, быстро воспроизводимым и высокочувствительным и может использоваться в скрининговых тестах in vitro относительно влияния различных лекарственных препаратов на привлечение глюкозы в метаболические пути. Показано, что алкилирующие препараты цисплатин и герцептин (гуманизированные моноклональные антитела против рецептора эпидермального фактора роста II типа) оказывают противоположное влияние на уровень поглощения глюкозы в зависимости от срока инкубации с клетками и типом клеток.

Ключевые слова: сыворотка крови, противоопухолевые препараты, тест-системы.

L. Garmanchuk, DSc
Taras Shevchenko National University of Kiev, Kiev

DEFINITION OF GLUCOSE UPTAKE BY TUMOR CELLS UNDER STANDARD CULTIVATION CONDITIONS AND UNDER THE ANTICANCER DRUGS

Glucose Oxidase method for determining glucose in serum blood was adapted to determine the concentration of the absorbed glucose cultured cells. In this purpose viable cells were counted at different stages of cultivation and difference of glucose concentration in the culture medium without cells was characterized level of glucose absorbed per cell. The method is cost-effective, fast and highly reproducible and can be used in screening tests on the effect of different drugs on the involvement of glucose metabolic pathways. It is shown that alkylating drug cisplatin and Herceptin (humanized monoclonal antibody against epidermal growth factor receptor type II) have opposite effects on the level of glucose uptake, depending on the length of incubation with the cells and cell type.

Key words: serum, anticancer drugs, the test system.