необхідної концентрації цитостатику для здійснення цитотоксичного ефекту.

На сьогоднішній день вже не викликає сумнівів той факт, що експресія рецепторів стероїдних гормонів злоякісними клітинами при РМЗ асоціюється з їх чутливістю до гормональної терапії, дає змогу прогнозувати перебіг захворювання і є важливим фактором для вибору адекватного лікування. Імуноцитохімічний аналіз експресії РП та РЕ в клітинах вихідної та резистентної сублінії показав, що у клітинах з фенотипом МЛР відбувається значне зниження рівня їх експресії. Якщо для клітин вихідної лінії MCF-7 кількість клітин, що експресують РП дорівнює 40,6 ± 0,6 %, а позитивних на РЕ – 20,6 ± 0,6%, то набуття резистентності призводить до майже повного зникнення експресії рецепторів як естрогенів, так і прогестерону [9].

Відомо, що дерегуляція експресії рецепторів стероїдних гормонів вносить значний внесок у розвиток та прогресію більшості випадків РМЗ. Стероїдні гормони та відповідні рецептори діють як фактори транскрипції, є активаторами різновекторних клітинних сигнальних шляхів, сприяють фізіологічному проходженню клітин клітинного циклу. Зникнення рецепторів стероїдних гормонів може асоціюватись із змінами рівня проліферації в клітинах. Порушення ж регуляції клітинного циклу є однією з основних ознак злоякісних новоутворень, що відбивається у характерній для пухлинних клітин збільшеній і нерегульованій проліферативній активності. І хоча на сьогодні проводяться масштабні дослідження по вивченню клітинного циклу та його порушень в пухлинних клітинах, але ще й досі не з'ясовано, які зміни виникають в них при набутті резистентності.

Не менш важливою прогностичною ознакою, що визначає ступінь злоякісності та агресивний потенціал пухлини, є показник проліферації злоякіснотрансформованих клітин. Імуноцитохімічне визначення характеру експресії Кі-67 (вона виявляється в ядрі клітини, що діляться, в усіх фазах клітинного циклу, крім G0 та ранньої G1) дозволило визначити кількість активно проліферуючих клітин. Проведений аналіз показав, що для клітин, резистентних до доксорубіцину, характерне зменшення на 10% кількості клітин, які експресують Кі-67. Крім того, було встановлено, що клітини лінії MCF-7/Dox відрізняється від клітин вихідної лінії і за швидкістю проліферації. Час подвоєння резистентних клітин лінії MCF-7/Dox є більшим і становить 23±0,5 години, тоді як час подвоєння вихідних клітин лінії MCF-7 – лише 19±0,5 години.

Висновки. Набуття резистентності до цитотоксичної дії доксорубіцину клітинами РМЗ лінії MCF-7 призводить до морфологічних та фенотипових змін в резистентних клітинах. Показано, що для пухлинних клітин з набутою резистентністю до доксорубіцину є характерною гіперекспресія P-gp, відсутність рецепторів стероїдних гормонів, зниження кількості активно проліферуючих клітин, у порівнянні з вихідними клітинами, зміни морфологічної будови, які пов'язані зі збільшенням ступеня диференціювання резистентних клітин. Зміни біологічних властивостей, які відбуваються при набутті клітинами резистентного фенотипу, відповідають за різні складові механізму виникнення МЛР, основною метою якого є забезпечення життєдіяльності клітин під впливом токсичної дії ППП.

1. Копнин Б.П. Неопластическая клетка: основные свойства и механизмы их возникновения // Практическая онкология. – 2002. – Том. 3, № 4. – С. 229 – 235. 2. Чехун В.Ф. Современные взгляды на формирование лекарственной устойчивости опухолей // Онкология. – 2000. – Том. 2, № 1-2. – С.11 – 15. 3. Baguley B.C. Multiple drug resistance mechanisms in cancer // Mol. Biotechnol. – 2010. – Vol. 46, № 3. – P. 308-316. 4. Gillet J.P. Mechanisms of multi drug resistance in cancer // Methods Mol. Biol. – 2010. – Vol. 596. – P. 47 – 76. 5. Gottesman M.M., Fojo T. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters // Nat. Rev. Cancer. – 2002. – Vol. 2(1). – P. 48 – 58. 6. Hembruff S., Laberge M., Villeneuve D. et al. / Role of drug transporters and drug accumulation in the temporal acquisition of drug resistance // BMC Cancer. – 2008. – Vol. 8. – P. 318-334. 7. Nooter K., Herweijer H. Multidrug resistance (mdr) genes in human cancer // Br. J. Cancer. – 1991. – Vol. 63, № 5. – P. 663-669. 8. Quintieri L., Fantin M., Vizler C. Identification of molecular determinants of tumor sensitivity and resistance of anticancer drug // Adv. Exp. Med. Biol. – 2007. – Vol. 593. – P. 95-104. 9. Yeates C., Hunt S.M., Balleine R.L., Clarke C.L. Characterization of a truncated estrogene receptor protein in breast tumors // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 83. – P. 460 – 467.

Надійшла до редколегії 12.12.11

УДК 578.

О. Білан, студ., О. Шевченко, канд. біол. наук, В. Поліщук, д-р біол. наук

РОЗВИТОК ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ В МОДЕЛЬНІЙ СИСТЕМІ "NICOTIANA TABACUM CV. SAMSUN – ВІРУС ТЮТЮНОВОЇ МОЗАЇКИ" ПІД ВПЛИВОМ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

В статті наведено результати дослідження особливостей перебігу вірусної інфекції, проведених у модельній системі Nicotiana tabacum cv. Samsun – вірус тютюнової мозаїки, під дією ультрафіолетового випромінювання типу С.

Article includes experimental results which demonstrate alteration of viral infection, conducted in model system Nicotiana tabacum cv. Samsun – Tobacco Mosaic Virus, under the influence of UV-C.

Вступ. Живі організми знаходяться під впливом багатьох абіотичних та біотичних факторів. Це має особливе значення для факторів, інтенсивність дії яких значно зросла із збільшенням техногенного забруднення зовнішнього середовища [1]. Наприклад, в результаті зменшення щільності озонового шару відбувається збільшення проникності ультрафіолетового випромінення у нижні шари атмосфери, відповідно вплив типу випромінення на живі організми, в тому числі і на рослини, стає більш істотним. Надмірна кількість ультрафіолетового випромінення впливає на ростові процеси, стабільність геному та біохімічні показники рослинного організму [2]. Віруси рослин, як облігатні внутрішньоклітинні паразити, також здатні впливати на активність біологічно активних сполук клітини, підпорядковувати білковий синтез для утворення структурних і неструктурних вірусних білків, змінювати структурний і функціональний стан органел, впливати на хід фізіологічних процесів та викликати патологічні зміни тканин і органів рослин [3]. На сьогоднішній день актуальним є вивчення вірусної інфекції у рослин, які зазнають додаткових стресових впливів. Особливий інтерес викликає дія випромінення, яке здатне впливати на фізіологічний стан рослин і на структуру та інфекційність вірусів, тому інфекційний процес у рослинному організмі під впливом ультрафіолетового випромінення потребує більш детального вивчення.

© Білан О., Шевченко О., Поліщук В., 2012

Метою даної роботи є вивчення особливостей динаміки розвитку інфекції, викликаної вірусом тютюнової мозаїки у рослин *Nicotiana tabacum* cv. Samsun при дії ультрафіолетового випромінення. Встановлення кореляційних залежностей проходження вірусної інфекції при дії ультрафіолетового випромінення може бути важливим для кращого розуміння процесів, які визначають особливості поширення вірусів рослин у природі.

Методи та матеріали. Об'єктами досліджень були 5 груп рослин *Nicotiana tabacum* cv.Samsun вирощених в однакових стандартних умовах. Зараження проводили вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ) методом механічної інокуляції. Згідно схеми досліду, рослини групи №1 були інокульовані перед опроміненням, а рослини групи №3 – після опромінення ультрафіолетом типу С. рослини групи №2 були інокульовані ВТМ та виступали в якості позитивного контролю. До контрольних груп №4 та №5 належали опромінені рослини, які не були інокульовані ВТМ, та інтактні рослини, відповідно. Опромінення рослин проводили за допомогою ультрафіолетової лампи УФ-С типу АОБМ-150м на відстані 25 см від джерела ультрафіолетового випромінювання. Потужність УФ-С випромінювання складала 3,4 Вт/м^2, час експозиції – 3 хв 41 с, енергія випромінювання – 750 Дж/м^2. Для визначення концентрації вірусу в дослідних рослинах застосовували імуноферментний аналіз (ІФА) у "сандвіч"-модифікації з використанням специфічної комерційної-системи виробництва Loewe (Німеччина) [4]. Результати ІФА реєстрували на автоматичному ELISA-рідері при довжині хвилі 405 нм. За позитивний результат приймався показник E_{405}, що принаймні вдвічі перевищував показник негативного контролю (сік здорової рослини) [5, 6].

Результати та їх обговорення. В результаті візуального спостереження було відмічено зміну морфології листкових пластинок опромінених рослин. Дані симптоми були виявлені на 4-й день після опромінення. Морфологічні зміни листкових пластинок проявлялись у загортанні країв догори і були виявлені у всіх групах рослин, які були опромінені ультрафіолетом-С (Рис.1). У рослин, які не були опромінені, подібних ефектів виявлено не було. Огляд рослин групи №4 показав, що ультрафіолетове випромінювання може викликати вірусоподібні симптоми на листках. Візуальне обстеження рослин групи №1, які були опромінені ультрафіолетовим випромінюванням та інокульовані ВТМ, показало наявність симптомів вірусної інфекції на листкових пластинках (Рис.2). У рослин групи №3, які спочатку були опромінені, а потім механічно інокульовані ВТМ, симптомів симптомів вірусної інфекції також виявлено не було. Відсутність симптомів вірусної інфекції у рослин групи №3 може свідчити про здатність ультрафіолетового випромінювання індукувати маскування симптомів вірусної інфекції (Рис.2).

а б в

Рис.1. Деформація листкових пластинок Nicotiana tabacum cv. Samsun під дією ультрафіолетового випромінювання.
а – рослини групи №3, б – рослини групи №1, в – рослини групи №4

а б

Рис.2. Симптоми ВТМ на рослинах *Nicotiana tabacum* cv. Samsun.
а – Мозаїка, викликана ВТМ (група №1); б – Інтактні рослини (відсутність симптомів, група №5)

Порівняльний аналіз вмісту ВТМ (оптичної густини E_{405}) у системно інфікованих листкових тканинах тютюну на 14-й та 30-й день після інфікування не виявив статистично значимих відмінностей у вмісті вірусу в рослинах груп №1, №2 і №3. Таким чином, ультрафіолетове опромінення типу С достовірно не впливає на концентрацію ВТМ в рослині, а отже – й на ефективність його реплікації (Рис.3).

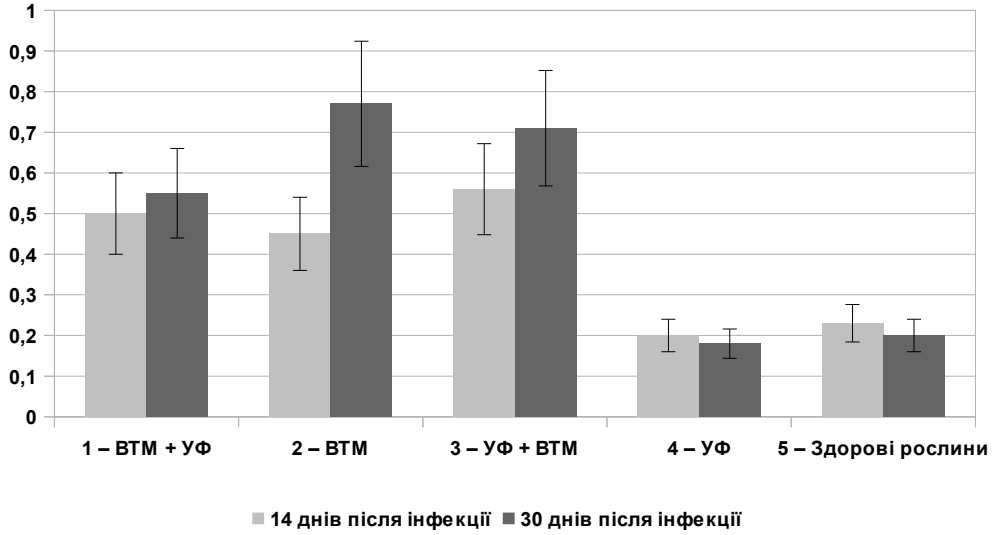

Рис.3. Вміст ВТМ у рослинах тютюну під впливом ультрафіолетового випромінювання типу С на 14 та 30 день після інфекції

Висновки. Досліджено особливості розвитку системної вірусної інфекції під стресовим впливом ультрафіолетового випромінювання типу С у модельній системі "рослини *Nicotiana tabacum* cv. Samsun – вірус тютюнової мозаїки". Показано, що ультрафіолетове випромінювання типу С у стресовій для рослин дозі на віддалено ранніх етапах вірусної інфекції не чинить достовірного впливу на вміст ВТМ у рослинах тютюну. Вперше продемонстровано, що під впливом ультрафіолетового випромінювання типу С відбувається "маскування" типових мозаїчних симптомів вірусної інфекції, не зважаючи на накопичення ВТМ у системно інфікованих рослинах тютюну.

1. A. Dmitriev, O. Shevchenko, V. Polischuk, and N. Guscha Effects of low dose chronic radiation and heavy metals on plants and their fungal and virus infection // Data Science Journal. – 2009. – V.8. – 24 September. – P. 49 – 57. 2. Pyle J.A. Global ozone depletion: observation and theory. Plants and UV-B. Responses to Environmental Change // Cambridge University Press. – 1996. – P.3 –12. 3. Balachandran S. Concepts of plant biotic stress. Some insights into the stress physiology of virus-infected plants, from the perspective of photosynthesis // Physiologia Plantarum. – V.100. – P.203-213. 4. Crowther J.R. ELISA. Theory and practice. – N.Y.: Humana Press, 1995. – 96 p. 5. Антитела 1. Методы // Под ред. Д. Кэтти – М.: Мир, 1991. – 196 с. 6. Антитела 2. Методы // Под ред. Д. Кэтти – М.: Мир, 1991. – 216 с.

Надійшла до редколегії 13.12.11

УДК 577.151.6:612.115:616-005

Н. Бурлова-Васильева, канд. біол. наук,
О. Савчук, д-р біол. наук, Л. Остапченко, проф.

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ АГРЕГОМЕТРІЇ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НА ТРОМБОЦИТИ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК

В статті описано підходи до визначення біологічних властивостей компонентів отрути Agkistrodon blomhoffi usuriensis. Визначено дві субстанції, які мають здатність інгібувати агрегацію тромбоцитів in vitro. Ступінь інгібування залежить від концентрації ефектора і від часу його інкубації з пробою.

This report reviews the scientific approaches used during the investigation of Agkistrodon blomhoffi usuriensis venom components. It was shown that the venom contained two components inhibiting platelet aggregation. The inhibition extent depended on effector concentration and incubation time.

Вступ. Застосування методу агрегометрії є одним з найпоширеніших підходів аналізу стану тромбоцитарної ланки гемостазу. Даний метод дозволяє дослідити не лише процес агрегації, а й оцінити адгезивну та секреторну функцію тромбоцитів. Тромботичні ускладнення є основною причиною розвитку таких важких захворювань, як інфаркт міокарда різної етіології, атеросклероз, гіпертонія і порушення мозкового кровообігу. Саме тому проблема ефективної діагностики стану тромбоцитарної ланки гемостазу та тестування ефективності фармацевтичних препаратів привертає особливу увагу.

Для лікування патологічного тромбоутворення на сьогоднішній день найбільш ефективними є антиагрегантна і тромболітична терапії. Значна кількість антиагрегантів, які застосовують у медичній практиці, отримані/розроблені на основі білків зміїної отрути [11, 5]. Отрути є багатим джерелом протеолітичних ферментів, які застосовуються чи можуть бути застосовані для діагностики серцево-судинних захворювань, а також для лікування і профілактики тромботичних ускладнень. Таким токсинам притаманні як прокоагулянтні, так і антикоагулянтні властивості, а також здатність впливати на функціонування ендотеліоцитів та тромбоцитів [6, 2, 14].

У даній роботі ми описуємо застосування методу агрегометрії для визначення характеристик компонентів отрути, які впливають на функціонування тромбоцитів з метою виділення білків, які мають терапевтичну цінність.

Об'єкт та методи досліджень. У роботі використовували плазму крові кроля, збагачену тромбоцитами. Кров відбирали пункцією вушної вени з додаванням розчину цитрату натрію (38 г / л) в кінцевому співвідношенні 9:1 і центрифугували 20 хв за 150 g і температури 20° С. Надосадову рідину, яка містила тромбоцити, відбирали і перевіряли клітини на активність за допомогою АДФ. При внесенні в пробу 2,5 мкм індуктора спостерігали агрегацію тромбоцитів.

Агрегацій ну активність реєстрували за допомогою агрегометра АР2110 фірми "Солар" (Білорусь). Реєстрували такі параметри агрегаційної кривої, як ступінь агрегації (%) максимальний рівень світлопропускання плазми крові після внесення ефектора. За 1 одиницю

© Бурлова-Васильева Н., Савчук О., Остапченко Л., 2012