

sensing of other hexoses and if small mutations in at the beginning of the C-terminal «tail» can cause pexophagy dysfunctions and suppression of catabolic repression.

References:

1. Kelekar A. Autophagy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2005;1066:259–71.
2. Nazarko VY, Futej KO, Thevelein JM, Sibirny AA. Differences in glucose sensing and signaling for pexophagy between the baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* and the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Autophagy* 2008a;4(3):381–4.
3. Neigeborn L, Schwartzberg P, Reid R, Carlson M. Null mutations in the SNF3 gene of *Saccharomyces cerevisiae* cause a different phenotype than do previously isolated missense mutations. *Molecular and Cellular Biology* 1986;6(11):3569–74.
4. Stasyk O.V, Stasyk O.G, Komduur J, Veenhuis M, Cregg J.M, Sibirny A.A. A hexose transporter homologue controls glucose repression in the methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*. *Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(9):8116–25.
5. Polupanov A.S, Nazarko V.Y, Sibirny A.A. Gss1 protein of the methylotrophic yeast *Pichia pastoris* is involved in glucose sensing, pexophagy and catabolite repression. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 44 (2012) 1906–1918.

Козак Т.П.

студентка,

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Науковий керівник: Лихова О.О.

кандидат біологічних наук, молодший науковий співробітник,

Інститут патології, онкології і радіобіології імені Р.Є. Кавецького

РОЛЬ ЦИТОКІНІВ У ПРОЦЕСІ ЕПІТЕЛІАЛЬНО-МЕЗЕНХІМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДУ ПУХЛИННИХ КЛІТИН

Програма епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП) – природний процес трансдиференціювання, який обумовлює епітеліально-мезенхімальну пластичність епітеліальних клітин і здатний направити розвиток епітеліальних клітин в бік мезенхімальних для набуття здатності до метастазування [1]. Сьогодні добре відома роль стромальних клітин в контролі фенотипу і поведінки пухлинних клітин [2], однак роль клітин кісткового мозку мало вивчена, хоча кістковий мозок є осередком значної кількості клітин різного рівня диференціювання та комітованості. Ці клітини є активними продуцентами цитокінів, що впливають на пухлинні клітини, приймаючи участь у процесах ЕМП.

З метою визначення можливої ролі деяких розчинних компонентів мікрооточення (цитокінів) кісткового мозку (КМ) у модифікації імунофенотипу пухлинних клітин епітеліального (лінія MCF-7) та мезенхімального (лінія MDA-MB-231) фенотипу проводили дослідження впливу мононуклеарів КМ хворих на рак молочної залози (РМЗ) людини *in vitro* з використанням моделі мультиорганної клітинної системи (МОС) [3]. В експерименті клітини КМ

пацієнтів хворих на РМЗ на різних стадіях перебігу захворювання та клітини РМЗ людини з різним фенотипом в одній лункі сполучалися через мембрану.

Серед розчинних факторів, що вимірювалися у цій роботі, були: інтерлейкін-6, кількість якого може зростати при прогресії онкозахворювань та метастазуванні; транскрипційний фактор росту β -1 (TGF β -1), який посилює ріст та міграцію високотрансформованих ракових клітин в умовах *in vivo*; фактор росту клітин ендотелію судин (VEGF), що є одним із основних факторів неоангіогенезу. У роботі використовувалися такі протипухлинні агенти, як мітоміцин С (мтц. С) та інтерферон-альфа (ІНФ- α), оскільки вони є потужними модифікаторами ЕМП в пухлинних клітинах [4] (культивування пухлинних клітин різного гістогенезу в присутності цих речовин призводило до пригнічення їх злоякісності *in vitro* та *in vivo*, і сприяло набуттю ними більш епітеліального фенотипу) та золедронова кислота (злд. к-та), яка *in vitro* інгібує остеобластну проліферацію, має цитостатичну дію, проапоптостатичну дію на пухлинні клітини, синергічний цитостатичний ефект з іншими протипухлинними ліками, антиадгезивну та інтиінвазивну дію.

Матеріали і методи: У дослідженнях використовувалися клітинні лінії: MDA-MB-231 – аденокарцинома молочної залози, клітини з метастатичного сайту (мезенхімальний фенотип), MCF-7 – аденокарцинома молочної залози, клітини з метастатичного сайту (епітеліальний фенотип) та клітини КМ у пацієнтів з ремісією РМЗ (відсутні ДПК) і з прогресією РМЗ (наявні ДПК). У роботі використано систему ко-культивування [3] клітин раку молочної залози (РМЗ) людини та мононуклеарів кісткового мозку (КМ) пацієнтів хворих на РМЗ на різних стадіях захворювання. Клітини MDA-MB-231 та MCF-7 культивували у пластиковому посуді в повному поживному середовищі: DMEM+10% фетальна сироватка теляти+антибіотик. Висівали в 24-лункові планшети в концентрації $4-5 \times 10^4$ клітин на лунку та інкубували за стандартних умов у зволоженій атмосфері при температурі 37 °C у присутності 5% CO₂ 24 години в 1.5 мл середовища. Через 24 години додавали клітини КМ в концентрації 50 тис. кл./лунку вносили у вкладки з мембранами з порами 0.4 мкм в об'ємі 500 мкл в лунку з клітинами, після чого додавалися препарати: золедронова кислота в концентрації -1 мкл/мл на лунку, мітоміцин С в концентрації – 0.5 мкл/мл на лунку, інтерферон-альфа в дозі – 20 тис. МО/мл. Клітини культивували за стандартних умов протягом 72 годин, після чого враховували кількість живих клітин за допомогою барвника трипанового синього та оцінювали рівень цитокінів у культуральному середовищі за допомогою тест-систем для ІФА ELISA (Німеччина): Human VEGF, Interleukin-6 human, TGF- β 1 та TNF-a human.

Результати: Вимірювання рівня VEGF при ко-культивуванні пухлинних клітин лінії MDA-MB-231 в присутності КМ та протипухлинних препаратів (рис. 1.) показали значну інгібуючу дію інтерферону-альфа на продукцію клітинами MDA-MB-231 цього цитокіну відносно контрольної групи (КГ). КМ-ремісія підвищує рівень VEGF у культуральному середовищі відносно КГ. Аналіз отриманих даних рівня VEGF (рис. 2.) показав значну супресивну дію мітоміцину С та інтерферону-альфа на продукцію клітинами MCF-7

вимірюваного цитокіну відносно КГ. КМ пацієнтів, хворих на РМЗ з різною стадією захворювання має низьку інгібуючу дію на MCF-7.

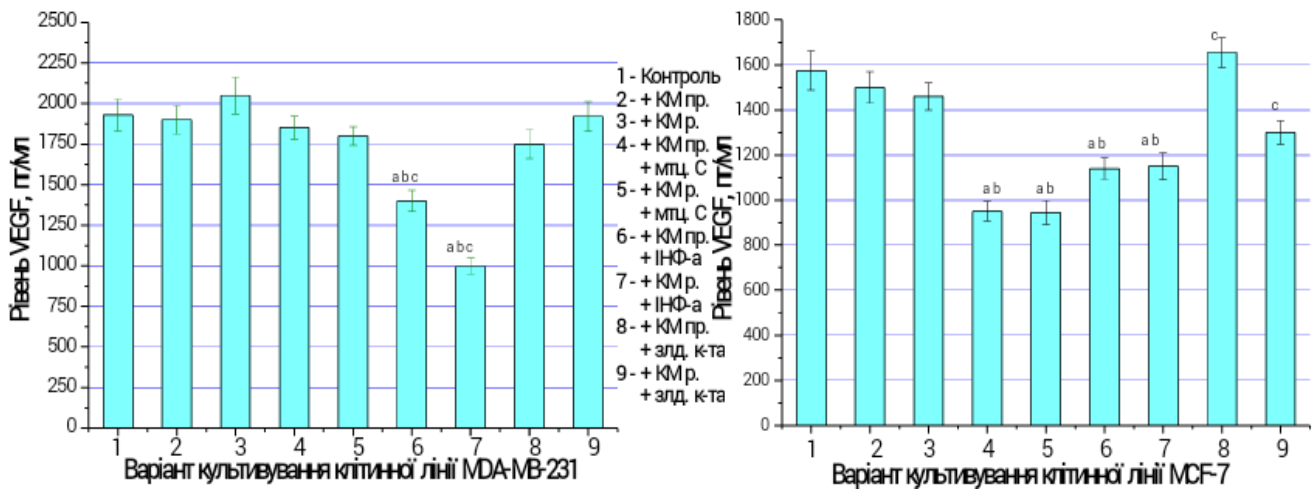


Рис. 1, 2. Вплив мононуклеарів КМ пацієнтів хворих на РМЗ та протипухлинних агентів на рівень VEGF клітинної лінії MDA-MB-231 та MCF-7 (a – дані достовірні відносно контролю $p < 0.05$; b – дані достовірні відносно контролю+КМ-прогресія/ремісія $p < 0.05$; c – дані достовірні в групах КМ-прогресія/КМ-ремісія один відносно одного)

Джерело: розроблено авторами

Порівняння даних рівня інтерлейкіну-6 відносно КГ при ко-культивуванні пухлинних клітин лінії MDA-MB-231 в присутності КМ та протипухлинних препаратів не показало значних змін рівня досліджуваного цитокіну (рис. 3.). Дослідження рівня інтерлейкіну-6 при ко-культивуванні пухлинних клітин лінії MCF-7 в присутності КМ та протипухлинних препаратів (рис. 4.) показало, що інтерферон-альфа має значний індукуючий вплив на продукцію клітинами MCF-7 інтерлейкіну-6. Мітоміцин С+КМ-ремісія та золедроновна кислота+КМ-ремісія також збільшують рівень цього цитокіну, що, однак, вказує на вплив мононуклеарів КМ на стадії ремісії РМЗ, оскільки рівень інтерлейкіну-6 у групах КМ-прогресія змінюється мінімально відносно КГ. Дослідження рівня інтерлейкіну-6 при ко-культивуванні пухлинних клітин лінії MCF-7 в присутності КМ та протипухлинних препаратів (рис. 4.) показало, що інтерферон-альфа має значний індукуючий вплив на продукцію клітинами MCF-7 інтерлейкіну-6. Мітоміцин С+КМ-ремісія та золедроновна кислота+КМ-ремісія також збільшують рівень цього цитокіну, що, однак, вказує на вплив мононуклеарів КМ на стадії ремісії РМЗ, оскільки рівень інтерлейкіну 6 у групах КМ-прогресія змінюється мінімально відносно контрольної групи.

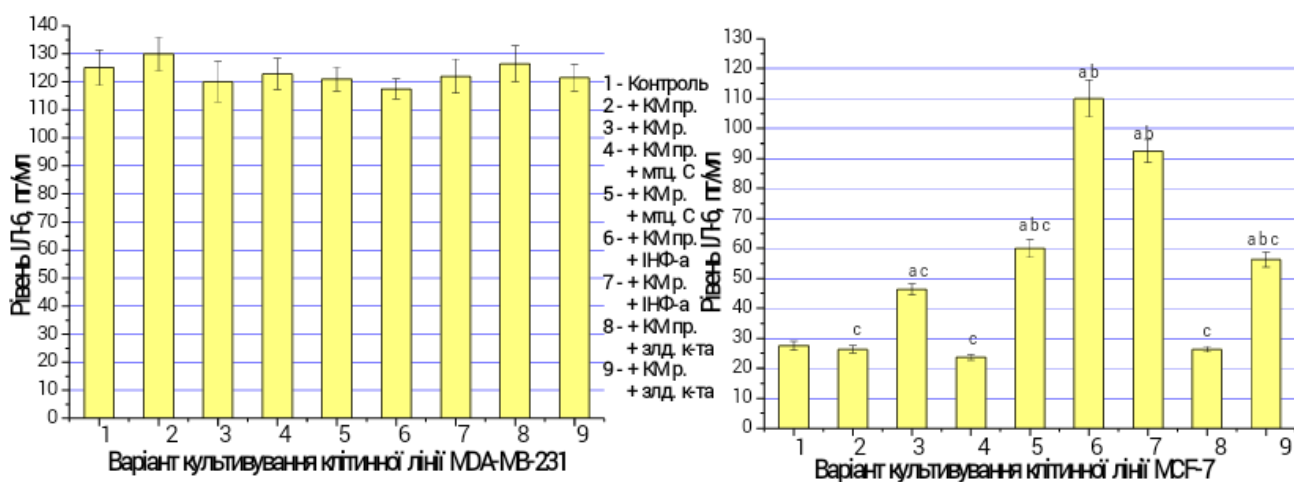


Рис. 3, 4. Вплив мононуклеарів КМ пацієнтів хворих на РМЗ та протипухлинних агентів на рівень інтерлейкіну-6 клітинної лінії MDA-MB-231 та MCF-7 (a – дані достовірні відносно контролю $p < 0.05$; b – дані достовірні відносно контролю+КМ-прогресія/ремісія $p < 0.05$; c – дані достовірні в групах КМ-прогресія/КМ-ремісія один відносно одного)

Джерело: розроблено авторами

Аналіз результатів рівня TGF- β 1 у порівнянні з КГ при ко-культивуванні пухлинних клітин лінії MDA-MB-231 в присутності КМ та протипухлинних препаратів (рис. 5.) показав значний інгібуючий вплив мітоміцину С та інтерферону-альфа в групах з КМ-ремісія відносно контролю. Золедронова кислота значно стимулює продукцію TGF- β 1 клітинами лінії MDA-MB-231.

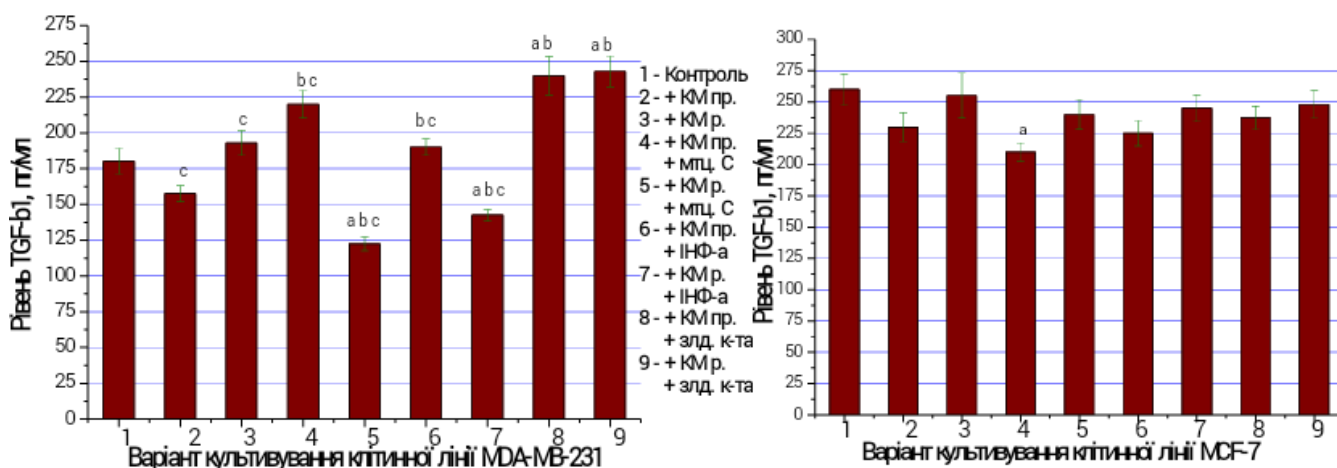


Рис. 5, 6. Вплив мононуклеарів КМ пацієнтів хворих на РМЗ та протипухлинних агентів на рівень TGF- β 1 клітинної лінії MDA-MB-231 та MCF-7 (a – дані достовірні відносно контролю $p < 0.05$; b – дані достовірні відносно контролю+КМ-прогресія/ремісія $p < 0.05$; c – дані достовірні в групах КМ-прогресія/КМ-ремісія один відносно одного)

Джерело: розроблено авторами

Порівняння зміни рівня TGF- β 1 у порівнянні з КГ при ко-культивуванні пухлинних клітин лінії MCF-7 в присутності КМ та протипухлинних препаратів (рис. 6.) показало помітний інгібуючий вплив КМ-прогресія у всіх варіантах досліджу.

Встановлено, що культивування клітин РМЗ з інтерфероном-альфа призводить до зменшення продукції VEGF досліджуваними пухлинними клітинами на ~25-50%, так само як і обробка клітин MCF-7 мітоміцином С на ~60%.

Виявлено інгібуючу дію мітоміцину С та інтерферону-альфа при ко-культивуванні клітин РМЗ людини лінії MDA-MB-231 з моноклеарними КМ пацієнтів хворих на РМЗ у стадії ремісії на рівень TGF- β 1 до ~30% та індукуючу дію золедронові кислоти до ~35% на рівень цього цитокіну й інгібуючий вплив моноклеарів КМ у стані прогресії РМЗ у пацієнтів на рівень TGF- β 1 до ~20% в культуральному середовищі з клітин MCF-7.

Встановлено індукуючий вплив інтерферону-альфа та моноклеарів КМ хворих на РМЗ в стані ремісії на продукцію клітинами РМЗ людини лінії MCF-7 інтерлейкіну 6 (~ в 4 рази) та низьку супресивну (~2%) дію інтерферону-альфа, мітоміцину С та моноклеарів КМ хворих на стадії ремісії РМЗ на продукцію інтерлейкіну 6 клітинами РМЗ людини лінії MDA-MB-231.

Список використаних джерел:

1. Nieto A. Epithelial plasticity: a common theme in embryonic and cancer cells / A. Nieto // Science. – 2013. – Vol. 342. – P. 708-715.
2. Strell C. Fibroblasts – a key host cell type in tumor initiation, progression and metastasis / C. Strell, H. Rundovits, A. Ostman // Upsala J. Med. Sci. – 2012. – Vol. 117. – P. 187-195.
3. Модифікація епітеліально-мезенхімального переходу в клітинах раку молочної залози внаслідок кокультивування їх з фібробластами та клітинами кісткового мозку / Н. О. Безденежних [та ін.]. // Онкологія. – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 191-196.
4. Модифікація в пухлинних клітинах антигенних характеристик, асоційованих з епітеліально-мезенхімальним транзитом, під впливом деяких цитокінів та протипухлинних препаратів / Н. О. Безденежних [та ін.]. // Гематологія і переливання крові. – 2014. – № 37. – С. 38-46.

Матковська А.І.

студентка,

Одеський національний університет

імені І.І. Мечникова

АНТАГОНІСТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛАКТОБАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ САМОКВАСНИХ ПРОДУКТІВ РІЗНИХ РЕГІОНІВ

На сьогоднішній день одним з перспективних напрямів мікробіології та біотехнології є пошук нових штамів-антагоністів серед молочнокислих бактерій для створення пробіотичних препаратів та продуктів функціонального