

catalase was determined in blood hemolysates. Total production of free radical compounds (FR) (measured with the fluorescent probe 2',7'-Dichlorofluorescein diacetate), the number of spontaneous (G_0 -test) and radiation-induced (G_2 -test) chromosomes aberration in PBL were determined.

For the statistical analysis of the results, the program "OriginPro 2015" was used. The main statistics factors were calculated, the correlation coefficients were determined by the Spearman criterion, and the presence of a significant difference was assessed using the Mann Whitney U-test and the Wilcoxon paired ranking criterion.

It was found that in patients with prostate cancer before radiation therapy, the level of Fe^{2+} dependent ROS production was increased in 1.55 times, the activity of the antioxidant enzyme catalase was reduced in 1.45 times, the levels of SH-groups were lower in 1.24 times and MDA in 1.12 times in comparison with healthy donors. These changes were statistically significant that indicate the development of oxidative stress in the blood of PC patients and were accompanied by increased level of spontaneous chromosomal aberrations in PBL which was in 2.84 times higher than the average population level. The decrease of CAT activity correlated with the size and

prevalence of the primary tumor ($r=0.526$) and the decrease of the SH groups content ($r=0.446$). The concentration of the latter in turn correlated with the number of spontaneous chromosomal aberrations in PBL ($r=0.734$).

The first fraction of therapeutic irradiation of patients with PC in a dose of 2.5 Gr resulted in a decline of the prooxidant processes in the blood towards the values of the control group. At the same time, the activation of FR formation in the PBL in 1,32 times was observed. The difference was not statistically significant due to a large variation of this indicator in PBL of individual patients with PC. According to the results of the G_2 -test, the inverse correlation between the individual radiosensitivity of PC patients and the production of FR in PBL after the first fraction of therapeutic irradiation ($r=-0.646$) was observed, which may be due to the different degree of their damage after radiation exposure.

It has been shown that an increased level of chromosome aberrations in the PBL of PC patients observed on the background of oxidative stress development in their blood. This suggests that the processes associated with the development of oxidative stress may be one of the reasons for the formation of genetic instability in somatic cells of cancer patients.

IRE1- ТА HSPB8-ЗАЛЕЖНА ЕКСПРЕСІЯ ПРОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ГЕНІВ У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ

ГНАТЮК О.С., МІНЧЕНКО Д.О., КУЗНЕЦОВА А.Ю., МІНЧЕНКО О.Г.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: hnatiuk@gmail.com

Вивчення молекулярних механізмів регуляції експресії генів як в нормі, так і за різних патологічних станів дає можливість глибше зрозуміти молекулярні основи патологічних процесів і знаходити молекулярні мішені для розробки новітніх стратегій лікування захворювань та створення принципово нових лікарських препаратів. Однією з особливостей злоякісних пухлин є посилення експресії чи функції факторів росту та контролюючих процеси проліферації транскрипційних факторів, що супроводжується активацією сигнальних мереж стресу ендоплазматичного ретикула. Дослідження експресії генів та їх ролі в регуляції процесів злоякісного росту спрямовані на розшифрування молекулярних основ патогенезу онкологічних захворювань і пошуку сучасних підходів до їх попередження та лікування, що є надзвичайно перспективним напрямком фундаментальних біохімічних досліджень.

Мета дослідження – виявити взаємодію генів, що контролюють процеси проліферації, шляхом пригнічення рівня мРНК полі-функціонального

протеїну HSPB8 (протеїну теплового шоку B8) за допомогою siRNA технології для в'ясування можливих механізмів функціональної перебудови геному та росту гліом.

Методи дослідження – сіленсінг мРНК, експресія генів за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції та вестерн-блот аналізу в клітинах гліоми лінії U87 зі зниженим рівнем мРНК HSPB8 та за умов пригнічення IRE1/ERN1 (inositol requiring enzyme 1/endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1). Статистичну обробку даних проводили із використанням програмного забезпечення MS Excel та Origin 7.0. Статистичний аналіз нормально розподілених двох груп проводили за допомогою t-тесту.

Встановлено, що у клітинах гліоми лінії U87 з пригніченою активністю протеїнкінази та ендорібонуклеази IRE1 у порівнянні з контрольними клітинами спостерігається різке зниження рівня експресії про-проліферативного гена HSPB8, що корелює з вираженим пригніченням інтенсивності проліферації цих клітин та їх росту при імплантації

у мозок мишей, причому рівень цієї мРНК супроводжується різким зниженням рівня протеїну HSPB8.

Показано, що зниження рівня мРНК та протеїну HSPB8 за допомогою siRNA технології знижує інтенсивність проліферації клітин гліоми лінії U87, гено-специфічно змінюючи рівень експресії великої групи генів, причетних до регуляції процесів проліферації та апоптозу. Так, рівень експресії генів *NAMPT*, *MYRL2*, *PALL*, *ATF3*, *DEK* і *CUL4B* знижується, а генів *NPDC1*, *RAB5C*, *BIRC5*, *TSPAN13*, *PSAT1* та *TGM2* – підвищується.

Встановлено також, що у клітинах гліоми за умов пригнічення IRE1 рівень експресії генів *CLU*,

ATF3, *BIRC5*, *RAB5C*, *CUL4A* та *TGM2* – знижується, а генів *CUL4B*, *PALL* та *MYRL2* – збільшується, причому виявлені зміни в експресії цих генів здебільшого мають протилежний напрямок у порівнянні з умовами сіленсінгу мРНК HSPB8, вказуючи на диференційний характер змін в експресії генів, що контролюють процеси проліферації, за умов зниження рівня мРНК HSPB8 та пригнічення IRE1 у клітинах гліоми.

Таким чином, сіленсінг мРНК HSPB8 істотно змінює рівень експресії генів, причетних до регуляції процесів проліферації, що не завжди співпадає зі змінами в експресії цих генів за умов пригнічення IRE1.

HYPOXIA/REOXYGENATION MODULATES THE OXIDATIVE STRESS DEVELOPMENT IN RAT MYOCARDIUM: THE POTENTIAL INVOLVEMENT OF P53 AND NF- κ B

GONCHAR O.O., MANKOVSKA I.M.

*BOGOMOLETZ INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;
e-mail: olga.gonchar@i.ua*

It is known that the increase in the generation of active forms of oxygen (ROS) in cells is accompanied by activating of intracellular signaling ways that, in turn, regulate expression of plenty of genes encoding the synthesis of antioxidant proteins, proteins of DNA restitution, stress-related chaperones and antiapoptotic proteins. Redox-sensible transcriptional factors – NF- κ B and P53 are considered as important sensors that play a critical role in the determination of the cell fate at oxidative stress.

It was investigated the influence of repeated short and long duration sessions of hypoxia/reoxygenation (H/R) on the markers of oxidative stress (content of superoxide anion, secondary products of lipid peroxidation, peroxide, and oxidative modification of proteins), level of expression and activity of mitochondrial antioxidant proteins as well as connection of these changes with the transcription regulators NF- κ B and P53. To investigate the mechanisms of influence of H/R on oxidative stress development and redox balance in rat myocardium, the protein expression of

NF- κ B, P53, MnSOD, and glutathione peroxidase (GPx) in cellular compartments (nucleus, cytosol and mitochondria) was analyzed by means of Western blot analysis; mRNA MnSOD was investigated by means of PCR real-time.

It was established that brief and prolonged H/R differently influenced on the cellular distribution of P53, level of mitochondrial oxidative stress and antioxidant defence. Prolonged H/R, unlike brief H/R, caused the considerable increase in ROS generation and oxidation of lipids and proteins in myocardium mitochondria, translocation of P53 from cytosol to mitochondria, mitochondrial pro- and antioxidant dysbalance, reduction in the content of antiapoptotic protein Bcl2 and accumulation of nuclear phospho-NF- κ B protein. The close correlation between a mitochondrial level of P53 and expressions/activity of its target proteins MnSOD and GPx allows admitting participation of P53 in the modulation of mitochondrial oxidative stress that was caused by sessions of H/R.