

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ
ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИНАУКОВО-ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ
«СУЧАСНА ОНКОЛОГІЯ: ВІД ФУНДАМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ
ДО НОВИХ ТЕРАПЕВТИЧНИХ ПІДХОДІВ»

12–13 жовтня 2021 р.

Київ

ПРОМЕНЕВА ДИФЕРЕНЦІЙНА
ДІАГНОСТИКА ОСЕРЕДКОВИХ УРАЖЕНЬ
ПЕЧІНКИ. МОЖЛИВОСТІ МРТ

М.О. Басараб, Б.О. Федорович

Харківський національний університет
ім В.Н. Каразіна, Харків, Україна

Summary. *The level of cancer incidence in all countries of the world is constantly increasing and, accordingly, the frequency of liver metastases from different organs increases. Therefore, the differentiation of metastases from possible non-malignant disease is of fundamental importance in determining the patient's fate.*

Своєчасна і точна діагностика осередкових уражень печінки є однією з найактуальніших проблем онкології. В Україні щорічно реєструються тисячі випадків метастазів у печінку з пухлин різних органів. Диференціювання метастазів у печінці з іншими доброякісними її ураженнями є важливим питанням. У клініці ще недостатньо використовують можливості магнітно-резонансної томографії (МРТ) у верифікації уражень печінки.

Мета: підвищити ефективність діагностики первинних та вторинних новоутворень печінки шляхом використання методу МРТ.

Матеріали та методи. У період з 1 серпня до 31 грудня 2020 р. на базі ТОВ «Ваше здоров'я» у м. Харків обстежено із застосуванням МРТ 750 пацієнтів. У 60 випадках при дослідженні органів черевної порожнини виявлено осередкову патологію печінки з наступними діагнозами: непухлинні осередкові ураження печінки, доброякісні пухлини, гепатоцелюлярний рак, метастази в печінці. При проведенні МРТ було використано стандартний протокол досліджень T2W-FSE, T2W-Fatsat, DWI (b = 800), FE in/out, T1W, T1W-FSAT. Для підвищення ефективності діагностики окремих форм осередкових уражень печінки використані Мр-критерії — локалізація ділянок ураження, їх кількість, структура, форма, розміри, контури, інтенсивність сигналу.

Результати. Проведено аналіз МРТ-ознак первинних та вторинних утворень печінки, розроблено та виділено найбільш типові критерії для диференційної діагностики, проведено порівняння можли-

востей комп'ютерної томографії та МРТ у діагностиці утворень печінки.

Висновок. МРТ є надійним методом променевої діагностики, що дозволяє виявити типові критерії, які дають можливість у більшості випадків діагностувати метастатичні ураження печінки.

ВИЯВЛЕННЯ ЛЕЙКЕМІЧНИХ
СЛОВБУРОВИХ КЛІТИН ПРИ РІЗНИХ
КЛІНІКО-ПРОГНОСТИЧНИХ ВАРІАНТАХ
ГОСТРИХ МІЕЛОЇДНИХ ЛЕЙКЕМІЙ

Т.О. Беженар

Інститут експериментальної патології, онкології
і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна

Summary. *Using cytomorphological and cytochemical methods, AML variants (M0, M2, M3, M4, M5) were verified according to the updated WHO classification (2017). Among the «common pool» of blast cells, the LSC subclone was determined in M4 and M5 AML, in AML with minimal signs of differentiation (M0 AML) and was not determined in promyelocytic (M3) and myeloblastic (M2) variants of AML.*

Гострі мієлоїдні лейкемії (ГМЛ) — це гетерогенні клональні захворювання, лейкемічні клітини при яких утворюють інфільтрати в кістковому мозку і виявляються в крові. Лейкемічні стовбурові клітини (ЛСК) є нащадками однієї клітини, що зазнала злоякісної трансформації на рівні поліпотентної гемопоетичної стовбурової клітини або комітованих клітин-попередників. Саме ЛСК визначають неефективність терапії у хворих на ГМЛ і зумовлюють рецидив захворювання.

Мета: розробити нові і удосконалити наявні методи діагностики гострих мієлоїдних лейкемії.

Матеріали та методи. Цитоморфологічні і цитохімічні дослідження мазків периферичної крові і кісткового мозку у 45 хворих на ГМЛ. Використання протокової цитометрії для імунофенотипового дослідження клітин периферичної крові і кісткового мозку з використанням панелей моноклональних антитіл. Застосовані методи варіаційної статистики.

Результати. За допомогою цитоморфологічних і цитохімічних методів охарактеризовані бластні клітини. Здійснена верифікація варіантів ГМЛ

(M0, M2, M3, M4, M5) за оновленою класифікацією ВООЗ (2017 р.), серед яких найбільшу частку становили ГМЛ М4 (мієло-моноцитарний) і М5 (монобластний/моноцитарний) лейкемії. Уперше проведено дослідження імунофенотипового профілю ЛСК при різних варіантах ГМЛ і показано, що найчастіше субклон ЛСК серед «загального пулу» бластних клітин визначався при М4 і М5 ГМЛ, також при ГМЛ з мінімальними ознаками диференціювання бластів (M0 ГМЛ). ЛСК не визначалися при промієлоцитарному (M3) і мієлобластному (M2) варіантах ГМЛ, основним клітинним субстратом яких є бластні клітини вищого ступеня диференціювання: CD34⁺CD38⁺CD117^{+/+}CD33⁺CD13^{+/+}.

Висновок. Ідентифіковані за імунофенотипом ЛСК (CD34⁺CD38⁺CD90⁺CD123⁺CD117⁻) при М4 і М5 варіантах ГМЛ частіше визначають неефективність терапії у хворих, а тому такі пацієнти потребують корекції протоколу лікування. Відсутність ЛСК при М2 і М3 варіантах ГМЛ, незважаючи на агресивний клінічний перебіг цих варіантів гемобластозів, сприяє швидшому досягненню ремісії у хворих.

ДІАГНОСТИЧНЕ ТА ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПУХЛИННО-АСОЦІЮВАНИХ МІКРОРНК-21, 125В ТА -221 У ХВОРИХ НА НАЙБІЛЬШ РОЗПОВСЮДЖЕНІ ГОРМОНОЗАЛЕЖНІ ЗЛОКІСНІ НОВОУТВОРЕННЯ

Т.В. Борікун, Т.В. Задворний, Н.Ю. Лук'янова,
В.Ф. Чехун

Інститут експериментальної патології, онкології
і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна

Summary. One of the current areas of fundamental oncology in recent years is the study of epigenetic disorders in the development and progression of hormone-dependent malignancies, which include breast cancer (BC) and prostate cancer (PCa). We investigated the expression of miRNA-21, -125b and -221 in tumor tissue of patients with BC and PCa to evaluate the possibility of their use as diagnostic and prognostic markers. We showed the correlations of the studied miRNA levels with some clinical and pathological characteristics of patients with BC and PCa, which have prognostic value (age of patients, stage of the disease, tumor size, presence of lymph node lesion, degree of differentiation, molecular subtype and PSA level in patients' serum), indicate the participation of these miRNAs in the formation of the BC malignancy degree of and the association with the aggressiveness of studied diseases.

Гормонально залежні пухлини, такі як рак молочної залози (РМЗ) та рак передміхурової залози (РПЗ) є найбільш поширеними онкологічними захворюваннями у жінок та чоловіків відповідно. За даними Національного канцер-реєстру, РМЗ посідає перше, а РПЗ — друге місце за захворюваністю та смертністю з-поміж усіх нозологічних форм злоякісних новоутворень жіночого та чоловічого населення Укра-

їни. Наведене визначає РМЗ та РПЗ як найбільш актуальну і надзвичайно важливу проблему онкології, яка потребує фундаментальних досліджень та впровадження їх результатів у практичну онкологію.

Мета: дослідити рівні мікроРНК-21, -221 та -125b в пухлинній тканині хворих із доброякісними та злоякісними новоутвореннями молочної та передміхурової залоз, оцінити можливість їх використання в якості діагностичних та прогностичних маркерів.

Матеріали та методи. У дослідження залучено 90 хворих на РМЗ I–III стадій, 80 хворих на РПЗ II–IV стадій, в якості контролю використовували зразки пухлинної тканини хворих з доброякісними пухлинами молочної та передміхурової залози. Експресію мікроРНК визначали методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією у реальному часі. Порівняння достовірності відмінностей середніх величин проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати. Встановлено існування прямої залежності між експресією мікроРНК-21 та -221 і такими клініко-патологічними характеристиками хворих на РМЗ та РПЗ, як стадія пухлинного процесу, наявність метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах та ступінь диференціювання пухлин. Показано різноспрямовані зміни рівнів експресії мікроРНК-125b у новоутвореннях молочної та передміхурової залози в залежності від клініко-патологічних характеристик пухлинного процесу. У пухлинній тканині РМЗ показники мікроРНК-125b обернено корелюють із стадією, наявністю метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів та ступенем диференціювання, у той час як в зразках РПЗ ця залежність є прямою. Показано зв'язок профілю експресії мікроРНК-21, -221 та -125b із показниками безрецидивної виживаності хворих на гормонально залежні пухлини.

Висновок. Отримані результати свідчать про зв'язок основних клініко-патологічних характеристик хворих на РМЗ та РПЗ з рівнями експресії мікроРНК -21, -125b та -221, що обґрунтовує необхідність продовження вивчення запропонованої панелі мікроРНК для їх використання як додаткових прогностичних маркерів.

Робота виконувалася в рамках НДР «Молекулярно-біологічні фактори гетерогенності злоякісних клітин та варіабельність клінічного перебігу гормонально залежних пухлин» (0117U002034) за фінансової підтримки Цільової програми наукових досліджень Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології Національної академії наук України «Молекулярно-генетичні і біохімічні механізми регуляції клітинних та системних взаємодій за фізіологічних та патологічних станів» (2017–2021).

ПРОТИПУХЛИННА ДІЯ *IN VITRO* НАНОСИСТЕМИ ПОЛІМЕР-ZNOHЧ ЩОДО КЛІТИН ЛІНІЇ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ LNCaP

П.А. Вірич¹, М.В. Погребиська-Хмарська¹,
В.О. Павленко¹, Н.В. Куцевол², В.Ф. Чехун¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і
радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Київський національний університет
імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Summary. The cytotoxicity of dextran-co-polyacrylamide nanocomposite with zinc oxide nanoparticles was investigated. Prostate cancer cell line LNCaP was used. The number of cells after 24 h is reduced by 97% at a concentration of zinc oxide nanoparticles 0.25M.

Сучасні підходи до лікування раку передбачають пошук альтернативних засобів з високою ефективністю, біосумісністю в поєднанні з низькою цитотоксичністю щодо нормальних клітин. Такі властивості демонструють багатокомпонентні системи, що містять у своєму складі носій та діючу речовину. У якості активного компонента використовують протипухлинні низькомолекулярні органічні сполуки, наночастинки металів та їх оксиди тощо.

Злоякісні новоутворення передміхурової залози характеризуються зниженням вмісту цинку у клітинах. Насамперед це впливає на активність цинковмісних ензимів, адаптерних протеїнів та регуляторних білків. Особливо важливу роль вони відіграють у регуляції клітинного циклу, реплікації ДНК та транскрипції.

Мета: створення та перевірка впливу системи кополімеру декстран-поліакриламід з наночастинками цинку на клітини раку передміхурової залози LNCaP.

Матеріали та методи. Синтез нанокompозиту полімер-наночастинки ZnO (ZnOHЧ) проводили *in situ* у водному розчині полімерної матриці за кімнатної температури з двох прекурсорів: ацетат цинку (C = 0,05 M) або сульфат цинку (C = 0,05 M) з додаванням КОН (0,05 M). Полімерною матрицею слугував біосумісний зіркоподібний кополімер декстран-поліакриламід (C = 10 мг/мл). Нанокompозит було досліджено методом УФ-видимої спектроскопії і доведено утворення наночастинок ZnO. Нанокompозит був стабільним у часі. Для дослідження протипухлинної активності отриманих систем *in vitro* використовували клітини лінії раку передміхурової залози людини LNCaP. Нанокompозит додавали до розчину інкубації методом двократних розведень у діапазоні концентрацій ZnO 0,25–0,0004 M. Витримували 24 год та рахували кількість живих клітин.

Результати. Виявлений цитотоксичний ефект 19% для концентрації ZnO 0,00625 M, 44% — 0,0125 M і 97% — 0,25 M. Отримана активність не залежить від використаного прекурсор для синтезу ZnOHЧ.

Висновок. Результати вказують на потенційні можливості застосування системи з метою лікування пацієнтів з раком передміхурової залози.

ПРОПУХЛИННІ ХАРАКТЕРИСТИКИ МІКРООТОЧЕННЯ РАКУ ШЛУНКА ПРИ ОЖИРІННІ

А.М. Галєєва¹, С.І. Вискірко¹, А.І. Гончаренко²,
І.І. Ганусевич¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і
радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Національний університет «Києво-Могилянська
академія», Київ, Україна

Summary. High values of body mass index are associated with increased tumor characteristics of the gastric cancer microenvironment, which indicates the influence of dysfunctional adipose tissue on tumor progression in obesity and opens the possibility of studying these tumor microenvironment factors as markers of disease in overweight patients.

Вступ. Відомо, що ожиріння пов'язане з підвищеним ризиком розвитку злоякісних пухлин та несприятливим перебігом захворювання. Вивчення механізмів таких зв'язків потребує як дослідження стану жирової тканини, так і її впливу на пухлину. Тому виявлення асоційованих з ожирінням факторів пухлинного мікрооточення надасть перспективу їх використання в якості маркерів перебігу пухлинного процесу за наявності у пацієнтів надмірної маси тіла.

Мета. Виявити взаємозв'язки між низькою показників мікрооточення раку шлунка (РШ) (швидкості генерування супероксидних радикалів (СР), рівня гіпоксії, щільності мікросудин (ЩМС), активності матриксних металопротеїназ-2 та -9 (ММП-2 та -9), кількості пухлиноасоційованих макрофагів (ПАМ), пухлиноасоційованих адипоцитів (ПАА), пухлиноінфільтруючих Т-лімфоцитів (ПЛ) і адипонектин-позитивних клітин (АПН⁺)) та індексом маси тіла (ІМТ) пацієнтів.

Матеріали та методи. Досліджено зразки пухлинної тканини 236 хворих на РШ (162 чоловіка, 74 жінки) I–IV стадії захворювання, серед них 110 пацієнтів з надмірною масою тіла (ІМТ \geq 25 кг/м²). Контрольну групу склали 126 хворих на РШ з нормальною масою тіла (ІМТ < 25 кг/м²). Використано загальноклінічні, ЕПР (електронний парамагнітний резонанс)-спектрометрії, ЯМР (ядерний магнітний резонанс)-спектроскопії, зимографії в поліакриламідному гелі, імуногістохімічні, статистичні методи досліджень.

Результати. У пухлинній тканині хворих на РШ з ожирінням I–III ступеня визначали в 2 рази вищі рівні швидкості генерування СР та в 1,4 рази вищі рівні сумарної активності желатиназ (ММП-2 та -9), ніж у пацієнтів з нормальною масою тіла. Серед хворих на РШ із зайвою масою тіла частіше, ніж серед пацієнтів з нормальною масою тіла, спостерігали середню та глибоку гіпоксію пухлинної ткани-

ни. У хворих з надмірною вагою виявлено відповідно в 1,4 раза та у 2 рази достовірно більшу кількість ПАМ та ПАА і відповідно в 1,8 раза та в 1,7 раза достовірно нижчу кількість ПЛЛ та АПН⁺-клітин в тканині РШ, ніж у пацієнтів без ожиріння. Виявлено корелятивні зв'язки між ІМТ та показниками ЩМС, кількості ПАМ і ПЛЛ у пухлинах пацієнтів середнього віку.

Висновки. Високі значення ІМТ асоційовані з посиленням пропухлинних характеристик мікрооточення РШ, що свідчить про вплив дисфункціональної жирової тканини на пухлинну прогресію за умов ожиріння та відкриває можливості дослідження наведених факторів пухлинного мікрооточення в якості маркерів перебігу РШ у пацієнтів з надмірною масою тіла.

ПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ ТА АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ РПЗ З ФЕНОТИПОМ ПУХЛИННИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Т.В. Задворний, Н.Ю. Лук'янова, В.Ф. Чехун

*Інститут експериментальної патології, онкології
і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна*

Summary. Prostate cancer (PCa) is one of the most common tumors in men of old and senile age. In modern literature, there is actively discussed intratumor heterogeneity, in which cancer stem cells (CSC) may be of particular importance. The presence of cells with the CSC phenotype against the background of high proliferative potential and violation of intercellular adhesion in PCa tissue is associated with an unfavorable course, which according to clinical and pathological indicators has a high malignancy degree.

Вступ. Висока летальність у пацієнтів з раком передміхурової залози (РПЗ) є наслідком прогресії захворювання, що виникає внаслідок лімфатичного, гематогенного чи суміжного локального поширення пухлинного процесу. Механізми, що лежать в основі метастазування РПЗ, до кінця не вивчені. Тому ідентифікація потенційних прогностичних біомаркерів для РПЗ має велике значення для підвищення ефективності терапії та покращення якості життя хворих. Перспективним у цьому напрямку вважається визначення пухлинних стовбурових клітин (ПСК).

Мета: дослідити проліферативну активність та адгезивні властивості новоутворень РПЗ з фенотипом ПСК.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на клінічному матеріалі 120 хворих на РПЗ II–IV стадії. Середній вік хворих становив $59,0 \pm 3,4$ року. Визначення ПСК та маркерів проліферації (Ki-67) і адгезії (E- та N-кадгерин) в пухлинній тканині проводили імуногістохімічним методом із застосуванням відповідних моноклональних антитіл. Статистичний аналіз отриманих результа-

тів проводили із застосуванням програмного пакету Statistica 6.0.

Результати. Встановлено наявність клітин із фенотипом ПСК (CD44⁺CD24⁻) у 44,2% досліджених випадків РПЗ. Виявлено, що наявність маркера ПСК у тканині РПЗ асоціювалася із високою проліферативною активністю (у 73,6%) пухлинних клітин та порушенням їх адгезивних властивостей за рахунок зниження експресії E-кадгерину (49,1%) та підвищення рівня N-кадгерину (69,8%). Визначено, що висока проліферативна активність та порушення адгезивних властивостей є характерною ознакою низькодиференційованого РПЗ з фенотипом ПСК у хворих на пізній стадії пухлинного процесу.

Висновок. Отримані нами дані щодо асоціації проліферативного потенціалу та адгезивних властивостей новоутворень з фенотипом ПСК з такими показниками злякисності РПЗ як стадія пухлинного процесу, наявність метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів та індекс Глісона свідчать про їх роль у формуванні агресивності перебігу пухлинного процесу.

Робота виконувалася в рамках НДР «Молекулярно-біологічні фактори гетерогенності злякисних клітин та варіабельність клінічного перебігу гормонозалежних пухлин» (0117U002034) за фінансової підтримки Цільової програми наукових досліджень Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології Національної академії наук України «Молекулярно-генетичні і біохімічні механізми регуляції клітинних та системних взаємодій за фізіологічних та патологічних станів» (2017–2021).

ВПЛИВ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ ПУХЛИНОНОСІЯ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ОМЕГА-3 ПОЛІЕНАСИЧЕНИМИ ЖИРНИМИ КИСЛОТАМИ

М.О. Зелінська, О.А. Самуляк, О.В. Кеца

*Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича, Чернівці, Україна*

Summary. The level of carbonyl derivatives and protein SH groups in the mitochondrial fraction of the liver and the level of creatinine and urea in the serum of tumor-bearing rats under the action of laser irradiation and the introduction of ω -3 PUFA were studied. It was found that the introduction of ω -3 PUFA and local fourteen-day irradiation with a laser diode in the area of growth of Guerin's carcinoma leads to a decrease in free radical processes in the liver and improved renal function, as evidenced by decreased OMP in mitochondrial liver and blood creatinine and urea.

Вступ. Виникнення та розвиток пухлини в організмі супроводжується зміною окисно-відновної рівноваги в клітинах печінки, у результаті чого ініціюється окиснювальна модифікація протеїнів (ОМП) субклітинних органел, зокрема мітохондрій. Локальна дія лазерного опромінення на новоутво-

рення може проявляти протипухлинний ефект, проте при цьому може порушуватися функціонування печінки та нирок, як основних гомеостатичних органів. Корекцію цих змін можуть здійснювати омега-3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК).

Мета: визначення маркерів вільнорадикальних процесів у печінці та показників функціонального стану нирок щурів з трансплантованою карциномою Герена за дії лазерного опромінення та введення омега-3 ПНЖК.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 120–150 г, яким трансплантували карциному Герена. Для визначення протипухлинної дії лазерного опромінення тварин щоденно протягом 4 хв опромінювали лазерним діодом у червоному діапазоні спектра (650 нм) потужністю 50 мВт через шкіру в ділянку росту новоутворення. Для корекції порушень печінки та нирок вводили омега-3 ПНЖК у дозі 120 мг/кг маси тварин.

Результати. Аналіз результатів показав, що в динаміці росту карциноми Герена у мітохондріальній фракції печінки підвищується рівень карбонільних похідних та знижується рівень протеїнових SH-груп з максимальними відхиленнями від контролю в стаціонарну фазу онкогенезу (21-ша доба росту пухлини). При цьому в сироватці крові підвищуються рівні креатиніну та сечовини, що свідчить про порушення їх виведення нирками з організму. Чотирнадцятиденне опромінення лазером призводить до несуттєвого зниження інтенсивності ОМП в мітохондріальній фракції печінки та кінцевих продуктів метаболізму в крові, що робить необхідним введення додаткових засобів для корекції прооксидантного статусу в організмі, якими є омега-3 ПНЖК. Найефективнішою схемою застосування омега-3 ПНЖК є їх попереднє введення перед трансплантацією пухлини, що очевидно призводить до їх вбудовування в мембранні структури клітин органів, та подальше введення під час опромінення.

Висновки. Отже, введення омега-3 ПНЖК та локальна дія на пухлинну тканину лазерного опромінення призводить до зниження вільнорадикальних процесів у печінці та покращення роботи нирок, про що свідчить зниження ОМП в мітохондріальній фракції печінки та рівня креатиніну та сечовини в сироватці крові.

ВПЛИВ TNF-А НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛЮКОЗИ У КЛІТИНАХ РАКУ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ В УМОВАХ ГІПЕРІНСУЛІНЕМІЇ *IN VITRO*

Т.П. Козак, Д.В. Кукурудза, О.О. Лихова

Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Summary. The effects of combined influences of insulin and TNF- α on the biology of prostate cancer (PC) cells require further study. TNF- α causes cytotoxic effects

on PANC-1 cells and improves the survival of Mia-pa-ca-2 cells. The cytokine causes an increase in lactate production in PANC-1 cells, and in Mia-pa-ca-2 cells — a decrease in this indicator. A high concentration of insulin enhances the effect of TNF- α on the viability and production of lactate by human PC cells *in vitro*.

Вступ. Рак підшлункової залози (РПЗ) — це злоякісне новоутворення, методи лікування якого на сьогодні є недостатньо ефективними. Відома позитивна кореляція між високими рівнями інсуліну і фактора некрозу пухлин α (TNF- α) та підвищеним ризиком виникнення або прогресії РПЗ. Ефекти комбінованого впливу цих факторів на біологію клітин РПЗ потребують додаткових досліджень.

Мета: дослідити *in vitro* комплексний вплив TNF- α та інсуліну на життєздатність та метаболізм глюкози клітинами РПЗ людини.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на моделі клітин дуктальної аденокарциноми людини ліній PANC-1 та Mia-pa-ca-2. У роботі використовували методи культури клітин, біохімічні та статистичні.

Результати. Було показано, що клітини Mia-pa-ca-2 чутливі до мітогенної дії інсуліну: гормон у концентрації 10 мкг/мл спричиняв збільшення кількості живих клітин на 17,5% ($p < 0,05$). Однак, Mia-pa-ca-2 не чутливі до цитотоксичної дії TNF- α , а обробка клітин цитокіном в концентрації 1,5 нг/мл призводила до підвищення їх проліферації на 14,1% ($p < 0,05$). Після культивування клітин Mia-pa-ca-2 за наявності комплексу «цитокін-гормон» відмічали посилення ефектів TNF- α . За концентрації TNF- α 1,5 нг/мл спостерігали збільшення кількості живих клітин на 21% ($p < 0,05$). Аналіз метаболічної активності Mia-pa-ca-2 після їх обробки інсуліном або TNF- α не виявив значних змін кількості поглинутої глюкози у порівнянні з контролем. Однак після обробки Mia-pa-ca-2 TNF- α (1,5 нг/мл) або інсуліном + TNF- α (10 мкг/мл + 1,5 нг/мл) спостерігали зниження продукції лактату на 14 і 20% ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем.

На відміну від Mia-pa-ca-2, клітини PANC-1 не чутливі до мітогенної дії інсуліну, але TNF- α в концентраціях 15 і 1,5 нг/мл викликав пригнічення проліферації PANC-1 на 31,3 та 27% відповідно. Одночасна обробка клітин PANC-1 інсуліном і TNF- α посилювала цитотоксичну дію прозапального цитокіну на 4–7%, причому більш виражений ефект спостерігали за низької концентрації TNF- α . Аналіз метаболічної активності клітин PANC-1 після їх обробки інсуліном не виявив значних змін кількості поглинутої глюкози. Однак після обробки PANC-1 TNF- α в монорежимі або в комплексі з інсуліном відмічали підвищення продукції лактату на 29–36% ($p < 0,05$).

Висновки. TNF- α спричиняє цитотоксичний вплив на клітини PANC-1 і не впливає на життєздатність клітин Mia-pa-ca-2. Обробка PANC-1 цитокіном призводить до підвищення продукції лак-

тату, а клітин MIA-ра-са-2 — до зниження цього показника. Інсулін у високій концентрації посилює вплив TNF- α на життєздатність і продукцію лактату клітинами РПЗ людини *in vitro*.

ІНСУЛІН ІНДУКУЄ ЗНИЖЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ КЛІТИН РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ ДО ДІЇ ДОКСОРУБІЦИНУ ШЛЯХОМ ПІДВИЩЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ PGP I ERCC-1

Д.В. Кукурудза, Т.П. Козак, В.Г. Лупан, О.О. Лихова
Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є.Кавецького НАН України, Київ, Україна

Summary. The peculiar aspects of carbohydrate metabolism as well as other metabolic pathways in cancer cells in the setting of high insulin content may affect essentially the sensitivity to cytostatic chemotherapy. Insulin inhibits the cytotoxic effect of doxorubicin on human breast cancer cells MCF-7. These effects are mediated by the shifts in glucose metabolism as well as the changes in the expression of proteins associated with drug resistance — Pgp and ERCC-1.

Вступ. Особливості метаболічної активності клітин раку молочної залози (РМЗ) людини, зокрема метаболізму вуглеводів, в умовах високого вмісту інсуліну можуть суттєво впливати на чутливість злоякісних клітин до дії протипухлинних препаратів. Однак механізми цього явища залишаються недостатньо вивченими.

Мета: дослідити *in vitro* вплив інсуліну на чутливість клітин РМЗ до доксорубіцину і експресію білків, асоційованих з метаболізмом глюкози і лікарською резистентністю.

Матеріали та методи. У роботі використовували клітини аденокарциноми молочної залози людини лінії MCF-7. Застосовували методи культури клітин та імуноцитохімічний аналіз.

Результати. Було показано, що IC₅₀ доксорубіцину щодо клітин MCF-7 становить $0,9 \pm 0,4$ мкг/мл. Культивування MCF-7 за наявності різних концентрацій інсуліну (2,0; 0,2 і 0,02 мкг/мл) призводить до статистично достовірного підвищення значення IC₅₀ у 2,4, 1,9 і 1,6 раза, відповідно, в порівнянні з контролем. Обробка клітин MCF-7 інсуліном в концентрації 2 мкг/мл супроводжується статистично достовірним підвищенням експресії базального рівня Akt в 2,4 раза порівняно з контролем. Аналіз експресії білків, асоційованих з лікарською резистентністю, в клітинах MCF-7 після їх обробки інсуліном показав, що гормон у високій концентрації викликає підвищення цитоплазматичної експресії Р-глікопротеїну (Pgp) на 27,6% порівняно з контролем. Крім того, інсулін в концентрації 2 мкг/мл в клітинах MCF-7 спричиняв підвищення ядерної експресії білка репарації ДНК ERCC-1 на 91,1% в порівнянні з контролем.

Висновки. Інсулін суттєво пригнічує цитотоксичний вплив доксорубіцину на клітини РМЗ людини

лінії MCF-7 у дозозалежний спосіб. Отримані результати свідчать, що однією з причин зниження чутливості клітин до дії цитостатика є значне підвищення експресії білків, асоційованих з лікарською резистентністю — Pgp та ERCC-1 в клітинах MCF-7.

МОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПРОГНОЗУ ПЕРЕБІГУ ВЕСТИБУЛЯРНИХ ШВАНОМ

О.Ю. Малишева

Державна установа «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», Київ, Україна

Summary. The low proliferative potential of vestibular schwannoma (VS). (average 2.8%, in terms of Ki-67 proliferation) is the evidence of a low degree of malignancy; however, in cases with indirect signs of chronic hypoxia in tumor tissue and increased levels of vascular endothelial growth factor may suggest rapid progression of the disease.

Вступ. Попередні дослідження співробітників установи довели факт діагностики вестибулярної шванноми (ВШ) в Україні на пізніх стадіях захворювання, що і обґрунтовує потребу в удосконаленні їх комплексної діагностики.

Мета: оцінка особливостей будови ВШ на основі аналізу клініко-анамнестичних даних і оцінки (якісної й кількісної) морфологічних симптомів.

Матеріали та методи. На ретро- і проспективному етапах оцінки результатів хірургічного лікування ВШ проаналізовано 522 спостереження Д 33.3 та класифікації пухлин центральної нервової системи (ВООЗ, 2016 р.) у відділеннях ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» у 2010–2019 рр. Відібрано 87 спостережень, у жодному попередньому не виконувалася операція або променевого лікування. Анамнез на момент діагностики становив у середньому 84 міс. Вік пацієнтів становив 51 [41–57] рік. Серед хворих із ВШ більш ніж у 2 рази переважали жінки (1: 2,5 (U = 509,6; Z = -0,51; p = 0,6)). ВШ розташовані ліворуч у 42 (48,3%) випадках [41,08; 55,12], праворуч — у 45 (51,7%) [39,15; 49,36]. За критеріями класифікації Koos розподіл на підгрупи був наступним: стадії Koos I–II — 22 (25%) пацієнти, Koos III — 49 (56%) і Koos IV — 16 (19%). У групу порівняння включено 43 хворих з кохлеовестибулярною симптоматикою, яка зумовлена іншою патологією. Застосовані загальноклінічні, нейровізуалізаційні, інструментальні методи обстеження відповідно до чинних стандартів, для об'єктивізації морфологічні й статистичні. Під час виконання дослідження дотримано принципи біоетики.

Результати. Обґрунтовано застосування інструментальних методів обстеження у разі виявлення поєднання скарг і типового клінічного профілю щодо підтвердження наявності ВШ. Доведено високо статистично значущі відмінності симптомокомплексу ВШ залежно від топографо-анатомічних характеристик за даними нейровізуалізаційних методів діагностики щодо напрямку їх переважного поширення

із характерними клінічними корелятами. Своєрідністю ВШ за топографо-анатомічними характеристиками є відмінності пріоритетного напрямку поширення пухлини: оральний, медіанний і каудальний (критерій Уїлкса — $\lambda = 0,105$; $p < 0,0001$), які мають специфічні клінічні прояви і є статистично значущими. Низький проліферативний потенціал ВШ (середній 2,8%, за показниками проліферації Ki-67) є свідченням низького ступеня злоякісності, однак у разі наявності опосередкованих ознак хронічної гіпоксії в тканині пухлини і підвищення показників фактору росту ендотелію судин існує імовірність швидкого прогресивного перебігу захворювання.

Висновки. Доведено, що пріоритетний напрямок поширення ВШ є статистично значущим предиктором загрози швидкої повної втрати слуху, порівняно з розміром пухлини на момент встановлення діагнозу за класифікацією Koos. Невідповідність між ступенем вираженості клінічних проявів — власне порушенням статокінетичної функції та показниками статокінезіограми, є свідченням активації регуляторно-компенсаторних корегуючих механізмів ЦНС.

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ SNAI1 ТА мікроРНК-10b І мікроРНК-135a В КЛІТИНАХ ЕНДОМЕТРІОЇДНОЇ КАРЦИНОМИ ЕНДОМЕТРІУ

І.О. Марченко, Л.Г. Бучинська

Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Summary. Decreased expression of transcription factor of epithelial-mesenchymal transition (EMT) Snail1 in moderately and poorly differentiated endometrial carcinomas, including G3 tumors that deeply invaded the myometrium, is associated with increased expression of microRNA-10b and -135a. The obtained data reflects one of the epigenetic mechanisms of expression regulation of the one of the EMT markers during the ECE progression.

Вступ. Епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП) має важливе значення в процесі інвазії та метастазування пухлин. Зміни в епітеліальних клітинах контролюються рядом поза- та внутрішньоклітинних чинників, які індуюють транскрипційні фактори ЕМП, у тому числі Snail1. Важливо зазначити, що експресія Snail1 також може залежати від опосередкованого впливу таких мікроРНК як мікроРНК-10b та -135a. Дотепер значення експресії Snail1 у прогресії ендометріоїдної карциноми ендометрія (ЕКЕ) остаточно не визначено.

Мета: визначити зв'язок експресії Snail1, мікроРНК-10b, мікроРНК-135a з клініко-морфологічними показниками хворих на ЕКЕ.

Матеріали та методи. Зразки операційного матеріалу 72 хворих на ЕКЕ у віці 32–78 років (середній вік становив $59,8 \pm 2,1$ року), які не отримували передопераційної терапії. У роботі були використані методи: морфологічний, імуногістохімічний (ІГХ),

полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі, статистичні.

Результати. При ІГХ дослідженні встановлено, що позитивна ядерна експресія Snail1 спостерігалася у 38,9% випадків ЕКЕ. Середнє значення експресії цього маркера, з урахуванням кількості та інтенсивності позитивно забарвлених клітин (H-score), становило $13,3 \pm 3,3$ бала. Показано, що експресія Snail1 була достовірно більш високою у G1-пухлинах ($24,7 \pm 3,4$ бала) порівняно з G2- та G3-новоутвореннями (відповідно $12,4 \pm 3,7$ та $10,3 \pm 3,2$ бала, $p < 0,05$). Найнижчі показники експресії цього маркера спостерігалися у G3-пухлинах, які глибоко інвазували міометрій ($6,4 \pm 3,4$ бала). Слід зазначити, що відсутність в окремих випадках експресії Snail1 у ЕКЕ асоціювалася з вірогідним зниженням активності маркера мезенхімальних клітин віментину ($22,8 \pm 2,9\%$) порівняно з експресією цього білка у Snail1-позитивних карциномах ендометрію ($37,7 \pm 3,9\%$, $p < 0,05$). Поряд із цим, визначене зниження експресії Snail1 у G3-пухлинах, що глибоко інвазували міометрій, асоціювалося з більш високим рівнем експресії мікроРНК-10b та -135a (відповідно $0,11 \pm 0,07$ та $18,3 \pm 8,3$ у.о.) порівняно з показниками їх експресії у G2-пухлинах з інвазією $< 1/2$ міометрію (відповідно $0,05 \pm 0,03$ та $9,3 \pm 6,2$ у.о.). Виявлена залежність експресії Snail1 від значених мікроРНК може бути зумовлена їх здатністю активувати GSK3- β , яка в свою чергу, фосфорилує Snail1, сприяючи його експорту у цитоплазму з подальшою протеасомною деградацією (Georgakopoulos-Soares I. et al., 2020).

Висновки. Зниження експресії транскрипційного фактора Snail1 в помірно- та низькодиференційованих карциномах ендометрію, у тому числі G3-пухлинах, що глибоко інвазували міометрій, асоціюється з підвищеною експресією мікроРНК-10b і мікроРНК-135a.

ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ БІЛКІВ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ В КЛІТИНАХ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ ПІД ВПЛИВОМ VEGF

О.М. Мушій, Т.В. Задворний, О.О. Лихова, Н.Ю. Лук'янова

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Summary. We found, that the osteonectin level has decreased (25% difference; $p < 0,05$) in DU-145 cells after the addition of VEGF to the culture media. At the same time, these media changes have caused to increase in the osteopontin expression (20% difference; $p < 0,05$) on the LNCaP cells.

Вступ. Згідно з даними статистики, основною причиною смерті від найпоширеніших форм раку, включаючи рак передміхурової залози (РПЗ), є метастазування. Вважається, що остеотропні властивості пухлинних клітин РПЗ можуть бути зумовлені змі-

ною співвідношення білків ремоделювання кісткової тканини. Саме тому важливо дослідити вплив VEGF на показники експресії білків ремоделювання кісткової тканини як одного з основних факторів пухлинної прогресії.

Мета: дослідити особливості експресії білків ремоделювання кісткової тканини в клітинах лінії РПЗ людини після дії VEGF.

Матеріали та методи. Експресію остеопонтину (OP), остеонектину (ON) визначали імуноцитохімічним методом. Клітини культивували з рекомбінантним VEGF за концентрації 50 нг/мл. Дослідження експресії мікроРНК, які залучені в регулювання їх експресії, у клітинах РПЗ людини застосовано метод полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism 7.

Результати. Встановлено, що культивування клітин РПЗ людини із VEGF призводить до зниження рівня експресії ON (на 25%; $p < 0,05$) у клітинах лінії DU-145 та підвищення експресії OP (на 20%; $p < 0,05$) в клітинах лінії LNCaP у порівнянні з контролем. Дослідження впливу VEGF на показники експресії мікроРНК, які залучені в регуляцію експресії білків ремоделювання кісткової тканини, продемонструвало зниження рівнів мікроРНК-29b та мікроРНК-146a в 4,8 рази та 3,4 рази відповідно ($p < 0,05$).

Висновки. Ідентифіковані особливості експресії білків ремоделювання кісткової тканини після дії VEGF свідчать про їх можливу роль у формуванні ступеня злоякісності клітин РПЗ людини та вказують на необхідність подальших досліджень у цьому напрямку.

Робота виконана в рамках відомчої тематики «Роль маркерів ремоделювання кісткової тканини у формуванні ступеня злоякісності найбільш розповсюджених гормонозалежних новоутворень» (№ держреєстрації 0118U005468).

АЛОГЕННА CAR T-КЛІТИННА ТЕРАПІЯ: ПЕРСПЕКТИВИ, ПЕРЕВАГИ ТА НЕДОЛІКИ

Ю.В. Новицька

Національний університет охорони здоров'я України ім. П.Л. Шупика, Київ, Україна

Summary. Autologous CAR T cells have started the new therapeutic era in the field of immuno-oncology. Although the practical use of this method is limited by manufacturing features, allogeneic CAR T cell therapy may provide effective solutions for these restrictions.

Традиційна аутогенна CAR T-клітинна терапія — це різновид імунотерапії, за якої використовуються T-клітини, отримані з крові пацієнта шляхом лейкоферезу, культивовані та генетично модифіковані для експресії химерного антигенного рецептора (CAR), що підвищує протипухлинну активність. Готові клітини реінфузують пацієнту. Хоча було доведено значну клінічну ефективність аутогенної терапії при множинній мієломі, гострому лімфобластному

му лейкозі, лімфомі із мантийних клітин та дифузній В-великоклітинній лімфомі; практичне використання цього методу обмежено багатьма факторами: значна собівартість виробництва, тривалість виготовлення (28 днів), неможливість використання методу у пацієнтів із лімфопенією та швидким прогресуванням захворювання, обмежена можливість повторної інфузії в разі потреби.

Метод алогенної CAR T-клітинної терапії передбачає використання генно-модифікованих T-клітин, отриманих від здорових донорів, у численних реципієнтів. Основним лімітуючим фактором даного методу є ризик розвитку реакції «трансплантат проти хазяїна». Для її уникнення досліджується використання методів генної інженерії, зокрема CRISPR/Cas9, ARCUS та TALEN, що передбачають відсутність α - та β -субодиниць T-клітинного рецептора, який забезпечує здатність T-лімфоцитів розпізнавати алогенні молекули MHC, що є основою розвитку цієї побічної реакції.

У клінічних дослідженнях CALM та PALL (2017 р.), у разі використання препарату UCART19 на основі алогенних TALEN-модифікованих T-клітин, частка відповіді становила 82% при попередньо проведеної цитотоксичній терапії та 67% — за її відсутності. Результати дослідження TruUCAR GC027 (2020 р.) свідчать, що 80% пацієнтів із рецидивним/рефрактерним гострим лімфобластним лейкозом, які пройшли лікування методом алогенної CAR T-клітинної терапії із використанням CRISPR/Cas9, досягли повної ремісії без побічних реакцій у вигляді нейротоксичності або реакції «трансплантат проти хазяїна». Альтернативні методи підвищення ефективності алогенної CAR T-клітинної терапії на даний момент активно досліджуються на I/II фазі, зокрема для лікування рецидивної або рефрактерної множинної мієломи.

Наведені дані вказують на перспективність подальшого дослідження алогенної CAR T-клітинної терапії для лікування пацієнтів з онкогематологічними захворюваннями, оскільки цей метод потенційно є більш економічно вигідним та доступним для осіб із швидким прогресуванням захворювання.

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ПОЛІАМІНІВ В ПЕРИФЕРИЧНІЙ КРОВІ ЩУРІВ З ВИХІДНИМ ТА РЕЗИСТЕНТНИМ ДО ЦИСПЛАТИНУ ШТАМАМИ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА В ДИНАМІЦІ РОСТУ ПУХЛИН

А.І. Палайда, В.В. Бентрад, О.О. Кленов, С.П. Залеток

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Summary. Correlations of polyamines level in tumor tissue and peripheral blood can be further used to monitor the effectiveness of various cytostatics on tumor development and disease monitoring.

Вступ. Поліаміни (ПА) — це невеликі природні полікатіони, які необхідні для росту і проліферації клітин. У разі розвитку злоякісних пухлин відбувається накопичення ПА як в тканині новоутворень, так і в біологічних рідинах (крові, сечі, спинно-мозковій рідині) організму. Ефективне лікування завжди супроводжується зниженням вмісту ПА у злоякісних клітинах та в біологічних рідинах організму. Якщо ж пухлина не реагує на лікування, то однією з причин такої ситуації може бути нездатність застосованих препаратів знижувати вміст ПА — речовин, що абсолютно необхідні для процесів росту. Тому визначення вмісту ПА в біологічних рідинах може використовуватися для моніторингу процесу лікування.

Мета: дослідити рівні ПА в периферичній крові щурів з перещепленими вихідним та резистентним до цисплатину штамами карциноми Герена в динаміці їх росту.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на щурах лінії Wistar з вихідним та резистентним до цисплатину штамами карциноми Герена. Визначення вмісту ПА в периферичній крові проводили методом рідинної хроматографії високого тиску на рідинному хроматографі Agilent 1200. Експериментальні дослідження виконані з дотриманням основних вимог щодо утримання та роботи з лабораторними тваринами і положень, викладених у Європейській конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986 р.).

Результати. Дослідження ПА в периферичній крові проведено в динаміці росту вихідного та резистентного до цисплатину штамів карциноми Герена (10–19-та доба після перещеплення пухлин). Найбільше підвищення рівня ПА в периферичній крові тварин з вихідним штамом карциноми Герена спостерігали на 15-ту добу росту пухлини, що відповідає інтенсивній фазі її росту. На 19-ту добу рівні путресцину, спермідину, сперміну в периферичній крові суттєво знижувалися, особливо це стосується спермідину. Зниження вмісту ПА в крові тварин повністю корелювало з їх рівнями в тканині пухлин.

Висновки. Дані щодо кореляції рівнів поліамінів у тканині пухлин та у периферичній крові в подальшому можуть бути використані для моніторингу ефективності впливу різноманітних цитостатиків на розвиток пухлин.

КОЛОНІЄУТВОРЮВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ КЛІТИН-ПОПЕРЕДНИЦЬ КІСТКОВОГО МОЗКУ ПАЦІЄНТІВ З МІЄЛОДИСПЛАСТИЧНИМ СИНДРОМОМ У ПОРІВНЯННІ З НОРМОЮ В УМОВАХ *IN VITRO*

М.В. Пахаренко¹, І.Ю. Лагоднюк¹, Г.С. Стародуб²

¹Національний університет «Києво-Могилянська академія»

²ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМНУ», Київ, Україна

Summary. Myelodysplastic syndrome (MDS) is a group of clonal diseases that show their pathological effects at the level of hematopoietic progenitor cells. 14 bone marrow samples from patients with MDS and 3 bone marrow samples from healthy donors was examined in semisolid agar *in vitro*. MDS in comparison with samples of normal hematopoiesis is characterized by suppressed ability to colony formation, as well as the appearance of chimeric forms of cell aggregates and the absence of classical colonies of compact type.

Вступ. Мієлодиспластичний синдром (МДС) — це група захворювань, що мають клональний характер та виявляють свій патологічний вплив вже на рівні клітин-попередниць кровотворення. Вірогідно, процеси, які реалізуються під час лейкоемічної трансформації, пов'язані з патологічними змінами на рівні стовбурових клітин та їх найближчих нащадків — гемопоетичних клітин-попередниць.

Мета: дослідження колонієутворюючої активності клітин-попередниць кісткового мозку пацієнтів з МДС у порівнянні зі зразками здорових донорів в умовах *in vitro*.

Матеріали та методи. Досліджували 14 зразків кісткового мозку пацієнтів з МДС та 3 зразки кісткового мозку здорових донорів. Вилучали фракцію мононуклеарів шляхом розділення за градієнтом щільності (1,077 г/мл) та культивували протягом 14 діб за умов абсолютної вологості, 5% CO₂ та 37°С у середовищі DMEM з додаванням 20% фетальної сироватки теляти, 1% пеніциліну/стрептоміцину, L-глутаміну, 3,3% агару та 50 нг/мл гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулювального фактору. Отримані у результаті культивування клітинні агрегати піддавали мікроскопії та забарвлювали за Паппенгеймом.

Результати. У результаті проведених досліджень було виявлено, що зразки кісткового мозку пацієнтів з МДС значно відрізнялися від зразків здорових донорів за кількістю утворених клітинних агрегатів, а саме $2,5 \pm 0,4$ на $1 \cdot 10^5$ експлантованих клітин та $32,6 \pm 0,2$ на $1 \cdot 10^5$ експлантованих клітин відповідно. Особливої уваги заслуговує той факт, що колонії, утворені у результаті культивування патологічних клітин-попередниць в основному були представлені гемопоетичними агрегатами химерної форми з жировими включеннями на поверхні деяких із них. Природа таких включень підтверджувалася забарвленням Суданом чорним Б. Окрім того, з патологічних клітин-попередниць утворювалися колонії компактного типу з «вінчиком» та дифузні, на відміну від нормальних клітин-попередниць, які диференціювалися в колонії компактного, компактного з «вінчиком» та дифузного типу класичної форми.

Висновки. Отже, МДС у порівнянні зі зразками нормального кровотворення характеризується пригніченою колонієутворювальною активністю, а також появою химерних форм клітинних агрегатів та відсутністю класичних колоній компактного типу. Зважаючи на те, що мієлодиспластичний синдром є клональним захворюванням, і в його основі лежить трансформація гемопоетичних клітин, зрозуміло, що механізм реалізації патологічного процесу відображається вже на рівні гемопоетичних клітин-попередниць.

НОВИЙ ПІДХІД У ВИВЧЕННІ РОЗПОВСЮДЖЕННЯ РАКУ ЛЕГЕНІ ПО ПАРЕНХІМІ

А.О. Пономаренко¹, Л.С. Болгова², Т.М. Туганова²,
О.І. Алексєнко², Н.М. Білько¹, В.А. Ганул²

¹Національний університет «Києво-Могилянська академія»

²Національний інститут раку МОЗ України,
Київ, Україна

Summary. A quantitative study of tumor cells of the main histological types of lung cancer (LC) and type II alveolar epithelium (AEII) with signs of proliferation and atypia in the lung parenchyma at different distances from the edge of the removed tumor was performed. It was determined that these cells are present at different distances from the tumor, which indicates the prevalence of LC in the parenchyma of the entire lung lobe. The presence of AEII with signs of proliferation and atypia may indicate its precancerous changes.

Вступ. Рак легені (РЛ) зазвичай діагностують у 60–70% пацієнтів у III–IV клінічних стадіях, що не дозволяє провести радикальне лікування. Причина пізньої діагностики РЛ продовжує турбувати вчених. Ряд дослідників вважають, що основним джерелом РЛ є клітини альвеолярного епітелію II типу (АЕІІ). Мотивацією для проведення досліджень стала відсутність однозначних поглядів на першопричину РЛ і недостатня вивченість поширеності його по паренхімі.

Мета: визначити розповсюдженість пухлинних клітин (ПК) основних гістологічних типів РЛ і клітин АЕІІ з ознаками проліферації і атипії по паренхімі органу.

Матеріали та методи. Проведено квантитативну оцінку ПК та АЕІІ з ознаками проліферації і атипії в залежності від гістологічного типу РЛ. Цитологічні препарати виготовляли зі зскрібків операційних матеріалів 9 хворих на РЛ, серед яких 2 з аденокарциною (АК), 4 — з аденосквамозним (АСР) і 3 — зі сквамозним (СР). Пацієнти обстежувались і лікувались в Національному інституті раку у 2019–2021 рр. Медіана їх віку — 60 років. Спеціальної терапії до операції не отримували. Матеріали верифіковано гістологічним методом згідно з Міжнародною гістологічною класифікацією (2015). Зскрібки робили скальпелем з розрізів паренхіми в напрямку від периферії паренхіми до пухлини з трьох ділянок:

периферичного краю пухлини (ПКП), перитуморальної зони (ПТЗ) — 2 см від новоутворення та найбільш віддаленої зони (НВЗ) — 5 см і більше. Препарати забарвлювали за методами Папенгейма та Папаніколау. У кожній ділянці рахували по 300 епітеліальних клітин. Використовували мікроскоп Olympus CX21 у зб.: $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$, $\times 1000$.

Результати. Показано, що в зоні ПКП у всіх спостереженнях були виявлені ПК, але у разі АСР і СР їх було в 1,3 раза менше, ніж у АК. Кількість АЕІІ з ознаками проліферації і атипії біля ПКП становила $26,3 \pm 23,1\%$ у разі АК, у препаратах хворих на АСР — $31,4 \pm 8,7\%$ і $39,7 \pm 16,6\%$ — на СР. У ПТЗ було значно менше ПК. Так, при АСР цей показник становив $18,1 \pm 5,0\%$, при АК $15,5 \pm 13,6$, а при СР — $4,4 \pm 1,8\%$. Клітин АЕІІ в ПТЗ у препаратах хворих на АК було значно більше — $62,7 \pm 55,1\%$, а у двох інших типах раку їх кількість зменшилася в 2 рази. У НВЗ легень ПК визначалися в незначній кількості. У разі АСР цей показник становив $14,8 \pm 4,1\%$, в два рази менше при АК і поодинокі — $3,1 \pm 1,3\%$ у разі СР. Клітини АЕІІ в НВЗ виявлені майже в однаковій кількості у всіх гістологічних типах РЛ, що в середньому становило $45,8 \pm 24,4\%$.

Висновки. Виявлення ПК на різній відстані від пухлинного вузла є свідченням розповсюдження РЛ по всій паренхімі. Наявність АЕІІ з ознаками проліферації і атипії можна вважати передраковими змінами. Результати цитоморфологічних досліджень з урахуванням зон паренхіми легені та гістологічного типу раку дають підстави розцінювати такий підхід як доказовий спосіб поширення пухлинного процесу в межах органу.

ЗАСТОСУВАННЯ ФРАКТАЛЬНОГО АНАЛІЗУ У КОМП'ЮТЕРНО-ТОМОГРАФІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ЛЕГЕНЕВИХ ВУЗЛИКІВ У ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ

С.В. Романів

Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України,
Тернопіль, Україна

Summary. This research shows the possibility of using fractal analysis for the diagnostics of medical images, namely the differential diagnostics of pulmonary nodules on CT of the lungs in order to determine their «morphological etiology». It will help to diagnose lung cancer in its early stages.

Вступ. Рак легень — один з найнебезпечніших видів раку з високим рівнем захворюваності та смертності. Рання точна діагностика та лікування хворих на рак легені може помітно підвищити рівень виживаності пацієнтів. Фрактальний аналіз широко використовується в обробці медичних зображень як допоміжний метод для рентгенолога в оцінці кількісних характеристик та у разі складності зображення.

Мета: охарактеризувати застосування методу фрактального аналізу для діагностики дрібних легеневих вузликів на комп'ютерних томограмах (КТ) у хворих на рак легені.

Матеріали та методи. Ретроспективно в динаміці проаналізовано комп'ютерні томограми 55 хворих на рак легені, у яких, крім первинного вогнища, були наявні вузлики від 2 до 10 мм, в загальній кількості 195. Фото досліджуваних вузликів оброблено в програмі ImageJ. Фрактальний аналіз (фрактальну розмірність, FD) реалізовано та виміряно для кожного вузлика в середовищі Matlab методом підрахунку коробочок (box counting method). Застосовано класифікатори Naive Baes, дискримінантний аналіз, Classification tree та Nearest Neighbor. Побудовано матрицю невідповідностей та ROC-криві з розрахунком площі під кривою AUC.

Результати. На КТ через 6 та 12 міс спостереження 120 вузликів були стабільні в розмірах, тому з них сформовано групу — «доброякісні». Інші 75, які в динаміці зазнали змін, відповідно — «злроякісні». На основі фрактальної розмірності (FD) кожного вузлика побудовано графіки та скатерограми, де наочно продемонстровано відмінність результатів двох різних груп. Після застосування класифікаторів AUC становила 0,99 для Naive Baes; 1,0 для Classification tree та Nearest Neighbor; для дискримінантного аналізу — 0,84. Це демонструє високу якість класифікаторів та придатність застосування фрактального аналізу для диференційної діагностики легеневих вузликів.

Висновки. Фрактальний аналіз є корисним інструментом для диференційної діагностики виділених легеневих вузликів на цифрових комп'ютерних томограмах легень, що дає можливість кількісно оцінити їх «доброякісну» або «злроякісну» природу.

Дослідження показало можливість застосування фрактального аналізу для виявлення метастатичного раку легень, а також дрібних вузликів невідомої морфологічної етіології. Цей показник можна застосовувати як важливу характеристику для аналізу медичних зображень.

ВПЛИВ ОЖИРІННЯ НА РІЗНИЦЮ ОТРИМАНИХ ДОЗ ПРИ ПРОВЕДЕННІ РАДІОТЕРАПІЇ РАКУ ТІЛА МАТКИ

А.С. Сімбір'ова

Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Summary. *The aim of the study was to evaluate the effect of anthropometric data on the deviation between the planned dose and the results of dosimetry in vivo in patients with uterine cancer during postoperative irradiation. When irradiated on the ROKUS-AM device, we did not find a probable dependence of the influence of the constitutional features of patients between the received and planned radiation dose. When treated with a Clinac 600 C, only body weight and body mass index at the tenth irradiation*

session have a likely effect on the dose difference. Therefore, issues related to the individual approach to the treatment of uterine cancer, depending on anthropometric data is an urgent problem of modern radiotherapy.

Вступ. Рак тіла матки в структурі злоякісних захворювань жінок протягом останнього десятиліття займає лідируючі позиції. Ряд дослідників відзначають, що зростання поширеності раку ендометрію зумовлено підвищенням захворюваності на рак ендометрію I типу, для якого ожиріння є основним фактором ризику. Важливим аспектом, пов'язаним з ожирінням, є зниження якості життя, про що повідомляють пацієнти. Однак ожиріння не тільки знижує якість життя і ускладнює проведення хірургічних процедур, а й викликає труднощі з плануванням і проведенням променевої терапії.

Мета: визначення впливу ожиріння на різницю між запланованою та фактично отриманою дозою у хворих на рак тіла матки.

Матеріали та методи. Проаналізовано результати лікування 110 хворих на рак тіла матки стадій ІВ–ІІ, які проходили лікування у відділенні променевої терапії ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України» з 2016 по 2019 рр. Післяопераційний курс дистанційної променевої терапії проведено 60 пацієнткам із використанням лінійного прискорювача Clinac 600C та 50 пацієнткам на апараті РОКУС-АМ. Вимірювання дози, отриманої слизовою оболонкою прямої кишки під час сеансів дистанційної променевої терапії, проводилося 2 рази за весь період лікування — на 1-му сеансі та після сумарної вогнищевої дози на малий таз 20 Гр за допомогою апарата UNIDOS E фірми PTW-Freiburg та водонепроникної іонізованої камери ТМ 30013 PTW Farmer ionization chamber. Безпосередньо перед початком процедури опромінення камеру вміщували до прямої кишки на глибину 8 см від ануса з дотриманням необхідних асептичних умов для всіх пацієнток. Наприкінці сеансу опромінення фіксувалася доза, отримана слизовою оболонкою прямої кишки. Для вивчення впливу конституціональних особливостей пацієнток на різницю між запланованою та отриманою дозою використовували показник індексу маси тіла (ІМТ). Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою пакета програм «Statistica 10.0» за використання непараметричних методів для малих вибірок; для визначення вірогідності отриманих даних використовували точний критерій Фішера, t-критерій Стьюдента.

Результати. Під час опромінення на гамма-терапевтичному апараті нами не виявлено вірогідної залежності впливу ІМТ на різницю між запланованою та фактично отриманою дозою. При опроміненні на апараті Clinac 600C ІМТ має вірогідний вплив тільки маса тіла та ІМТ на десятому сеансі опромінення (коефіцієнт кореляції -0,28 та -0,37 відповідно ($p < 0,05$). Зі збільшенням ІМТ фактично отримана доза на слизову оболонку прямої кишки, ви-

міряна за допомогою дозиметрії *in vivo* на десятому сеансі опромінення наближується до розрахункової. При ІМТ 43,0–50,0 кг/м² фактична отримана доза на слизову оболонку прямої кишки з більшою долею вірогідності відповідає запланованій дозі та становить 2,0 Гр.

Висновки. Враховуючи отримані результати, можна констатувати, що група пацієнок з надлишковою масою тіла потребує більш ретельного контролю за фактично отриманою дозою, так як це безпосередньо впливає на якість лікування і променевої токсичності. Програма дозиметрії *in vivo* має стати частиною системи якості променевої терапії та використовуватися для всіх пацієнтів з високим ІМТ, які проходять променевої терапії.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НАНОЧАСТИНОК GdYVO₄:Eu³⁺, АКТИВОВАНИХ УЛЬТРАФІОЛЕТОВИМ ВИПРОМІНЮВАННЯМ, НА АПОПТОЗ ЛЕЙКОЦИТІВ

А.С. Ткаченко, А.І. Оніщенко, В.Ю. Прокотко

Науково-дослідний інститут експериментальної та клінічної медицини Харківського національного медичного університету, Харків, Україна

Summary. Both UV light-pretreated and non-treated GdYVO₄:Eu³⁺ nanoparticles induce leukocyte apoptosis at concentrations of 80 µg/ml and higher, evidenced by JC-1 staining of leukocyte suspensions exposed to these nanoparticles for 4 hours. Data were acquired by flow cytometry.

Вступ. Відомо, що наноматеріали можуть використовуватися для оптимізації променевої терапії у пацієнтів з онкопатологією. Механізм дії наночастинок пов'язаний з активацією генерації активних форм кисню під дією іонізуючого випромінювання, що в подальшому призводить до апоптозу клітин пухлин. Зокрема, наночастинок ортованадату гадо-лінію-ітрію з домішками європію (GdYVO₄:Eu³⁺) є перспективними радіомодифікаторами за умов попередньої активації ультрафіолетовим (УФ) випромінюванням. Однак практичне застосування наночастинок є обмеженим внаслідок їх токсичної дії на здорові клітини.

Мета: оцінити здатність наночастинок GdYVO₄:Eu³⁺, попередньо активованих УФ та неактивованих, індукувати апоптоз лейкоцитів.

Матеріали та методи. Зразки крові, зібрані у 9 дорослих шурів популяції WAG, інкубували у поживному середовищі RPMI 1640 з 5% фетальної бичачої сироватки та активованими або неактивованими наночастинками GdYVO₄:Eu³⁺ (0-20-40-80 мкг/мл) протягом 4 год. Наночастинок попередньо активували УФ з використанням ртутної лампи 250 Вт (світловий потік — 43 Вт/см², смуговий прохід — 1 = 205–315 нм) протягом 40 хв. Отримані суспензії лейкоцитів інкубували з антитілами до CD45, що є маркером лейкоцитів, та мітохондріальним зондом JC-1 для оцінки інтенсивності апоптозу. Дані були

отримані за допомогою проточного цитометра BD FACSCanto™ II. Критерії Крускала — Уолліса та Данна були використані для порівняння результатів.

Результати. Відсоток клітин з деполяризованими мітохондріями, які не утворюють J-агрегатів, не змінювався при використанні активованих УФ або неактивованих наночастинок у концентраціях 20 та 40 мкг/мл. У той же час цей параметр був у 3 рази вищим у досліджених зразках лейкоцитів при використанні неактивованих наночастинок у концентрації 80 мкг/мл (p < 0,0001). Слід зазначити, що попередня активація наночастинок УФ не призводила до збільшення відсотка клітин, які не утворюють J-агрегатів, тобто лейкоцитів, що зазнали апоптозу, за концентрації 80 мкг/мл у порівнянні з неактивованими частинками.

Висновки. Наночастинок GdYVO₄:Eu³⁺ як активовані УФ, так і неактивовані, індукують апоптоз лейкоцитів у концентраціях 80 мкг/мл та вище.

КЛІНІЧНІ АСПЕКТИ ВИЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ СІМЕЙСТВ МІКРОРНК-200 ТА LET-7 У ПАЦІЄНТОК З РАКОМ ЯЄЧНИКІВ

С.Р. Фернеза¹, Р.Р. Ярема¹, Г.В. Макух²,
Н.А. Володько¹

¹Кафедра онкології та радіології Факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького

²ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»

³Діагностичний центр Наукового медико-генетичного центру «ЛеоГЕН», Львів, Україна

Вступ. Рак яєчників (РЯ) займає 1-ше місце у структурі онкогінекологічної смертності та характеризується низькою 5-річною виживаністю (45–47%) та вірогідністю рецидиву у 25% вже в перші 6 міс після завершення лікування. Причиною цього є хіміорезистентність клітин РЯ до першої лінії хіміотерапії. Відносно нещодавно виявлено некодуючі РНК — мікроРНК, що потенційно можуть стати маркером «рідинної біопсії» для раннього встановлення чутливості РЯ до хіміопрепаратів та ефективного лікування.

Мета: порівняти експресію мікроРНК-200а та мікроРНК-200с у жінок з первинним та рецидивним РЯ.

Матеріали та методи. Дослідження базується на визначенні експресії мікроРНК у плазмі 15 хворих на РЯ, що пройшли лікування на базі Львівського онкологічного регіонального лікувально-діагностичного центру у 2019–2021 рр. Визначення рівнів експресії мікроРНК-200а, мікроРНК-200с, мікроРНК-U6 в плазмі крові пацієнок з РЯ методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції. Зразки розділено на 2 групи: 1-ша група — первинно-діагностований РЯ (10 зразків), 2-га група — рецидивний РЯ (5 зразків). У всіх випадках РЯ належав до серозного високозлоякісного (high-grade) гісто-

логічного підтипу, а забір зразків відбувався до початку лікування.

Результати. У групі 1 середнє значення $2^{-\Delta\Delta Ct}$ для мікроРНК-200а та мікроРНК-200с становило $1,2 \pm 0,4$ та $1,1 \pm 0,3$ відповідно і було значно вищим у порівнянні з показниками 2-ї групи — $0,4 \pm 0,1$ та $0,7 \pm 0,3$. Отже, виявлено тенденцію до нижчої експресії мікроРНК-200а та мікроРНК-200с у групі з рецидивним асоційованим з резистентністю до похідних платини РЯ порівняно з первинним РЯ, що може свідчити про онкосупресивну дію обох мікроРНК.

Висновок. Нижчий рівень експресії мікроРНК-200а та мікроРНК-200с у пацієнтів з РЯ з рецидивним асоційованим з резистентністю до похідних платини РЯ може стати предиктивним фактором чутливості серозного високозлоякісного РЯ до хіміотерапії.

ОПТИМІЗАЦІЯ ПАРАМЕТРІВ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ФОТОБІОМОДУЛЯЦІЇ ТЕРАПІЇ ПУХЛИН

О.М. Чепурна, Н.Ю. Лук'янова, В.Ф. Чехун

Інститут експериментальної патології, онкології і радіології ім. Р.Є. Кавецького, НАН України, Київ, Україна

Вступ. На сьогодні існує безліч методик проведення лазерного опромінення пухлин з використанням методів фотодинамічної терапії (ФДТ) та фотобіомодуляції. ФДТ дозволяє селективно вплинути на пухлинні тканини шляхом вибіркового накопичення фотоагента, який під впливом лазерного випромінювання в комбінації з молекулярним киснем утворює синглетний кисень O_2 , що і руйнує пухлину. У той же час лазерне випромінювання може зіграти синергетичну роль разом з фотодинамічною та хіміо-терапією шляхом підвищення накопичення препаратів в малігнізованих тканинах та підвищення їх токсичності.

Мета: дослідити особливості впливу лазерного випромінювання різної інтенсивності на культури клітин раку передміхурової та молочної залози різного ступеня злоякісності.

Матеріали та методи. Для проведення експериментальних робіт було обрано клітинні лінії раку передміхурової залози DU-145, LNCaP в поєднанні з 5-aminolevulinic acid (ALA) та молочної залози MCF-7, MCF-7-DOX в поєднанні з доксорубіцином (DOX). У ролі джерела світла було використано лазерні прилади виробництва Фотоніка Плюс. Для клітинних ліній DU-145, LNCaP використовували лазерне випромінювання з довжинами хвиль 405, 660 нм; час опромінення — 3, 7, 10, 12 хв та, відповідно, дози опромінення — 3,6; 8,4; 12; 14,4 Дж/см², щільність потужності лазерного випромінювання становила 20 мВ/см². Для клітинних ліній MCF-7 використовували лазерне випромінювання 445, 635 та 810 нм, час опромінення — 1, 5, 10 хв, дози опромінення 3, 15, 30 Дж/см² відповідно, щільність

потужності становила 50 мВ/см². МТТ-тест використовували для оцінки цитотоксичного впливу імплантаційних матеріалів на клітини всіх досліджуваних ліній.

Результати. Визначено цитотоксичний вплив лазерного випромінювання різних довжин хвиль та дози опромінення в поєднанні з ALA, на клітинних культурах раку передміхурової залози різного ступеня злоякісності. Для клітинних культур DU-145 та LNCaP найвища фотодинамічна активність отримана при дозі опромінення 10 Дж/см² із довжиною хвилі лазерного опромінення 405 нм. За даних параметрів було виявлено 20% виживаності порівняно з контролем без опромінення та без препарату ALA. Для порівняння в результаті опромінювання з такою ж дозою лазера, але довжиною хвилі 635 нм, смертність клітин становила 60% порівняно з контролем.

Встановлено, що цитотоксичний вплив DOX на клітини MCF-7 підвищується з використанням лазерного випромінювання з довжиною хвиль 445 нм, що співпадає з піком поглинання DOX у порівнянні з загальноприйнятим методом опромінення з довжиною хвиль 660 нм. Окрім того, було проведено дослідження лазерним випромінюванням інфрачервоного спектра (810 нм) для підвищення токсичної дії DOX шляхом попередньої фотобіомодуляції клітин шляхом підвищення накопичення хіміопрепаратів у клітинах.

Висновки. Отже, важливим є підбір оптимальних параметрів лазерного випромінювання залежно від різного морфологічного типу пухлин та ступеня їх злоякісності для отримання максимального ефекту від лікування.

PHOSPHORYLATION OF USP1 BY BCR-ABL LEADS TO DEREGULATION OF ITS FUNCTIONS AND PROGRESSION OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

S.V. Antonenko, D.S. Gurianov, G.D. Telegeev

Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Background. The development of chronic myeloid leukemia (CML) is associated with the appearance of the Bcr-Abl oncoprotein, which is formed as a result of reciprocal translocation between chromosomes 9 and 22. Due to the constitutive tyrosine kinase activity Bcr-Abl uncontrollably phosphorylates its protein partners. USP1 was identified as a potential partner for interaction with Bcr-Abl by mass spectrometric analysis. USP1 is a deubiquitinating protein that prevents proteasomal degradation of proteins, its' dysfunction is typical for malignant cells. We believe that during the formation of the protein complex, Bcr-Abl kinase activates USP1 by phosphorylation, which promotes the accumulation of cancer protein in cells and the progression of CML.

Aim. To study the molecular mechanisms of Bcr-Abl/USP1 protein complex formation, features of USP1 phosphorylation and the effect of Bcr-Abl tyrosinase on its activity in CML cells.

Materials and methods. K562 cells were cultivated in RPMI 1640 medium with 10% of FBS at 37 °C, 95% relative humidity and 5% CO₂. To inhibit tyrosine kinase activity, 2.5 mM imatinib was added to the cells and incubated for 24 hours. The study of the Bcr-Abl/USP1 protein complex and phosphorylated forms of USP1 was performed using co-immunoprecipitation, Western blot, immunofluorescence analysis, confocal microscopy and quantitative analysis. Bioinformatic analysis of phosphorylation sites was performed using KinasePhos, NetPhos 2.0 Server and PhosphoPICK software.

Results. The interaction and nuclear colocalization of Bcr-Abl and USP1 in K562 cells were shown, which became a prerequisite for studying phosphorylated forms of USP1. Bioinformatic analysis provided Y504, Y678, Y681 phosphorylation sites for the USP1. Experimentally, by co-immunoprecipitation and immunofluorescence analysis, the presence of tyrosine-phosphorylated forms of the USP1 in the nuclei of K562 cells was confirmed. It has been found that under the effect of a tyrosine kinase inhibitor, the USP1 changes its nuclear localization to cytoplasmic, which is known to be one of the signs of loss of enzyme activity.

Conclusion. A new protein complex Bcr-Abl/USP1 was detected in CML cells, the formation of which may result in uncontrolled phosphorylation of the USP1. The relationship between Bcr-Abl tyrosine kinase activity and partial disruption of nuclear exports for the USP1, which is a sign of an inactive form of the protein, has been shown. We believe that uncontrolled phosphorylation of the USP1 by Bcr-Abl kinase deregulates its functions and by deubiquitination prevents proteosomal degradation of the oncoprotein, which contributes to its accumulation and progression of CML.

CAUSES AND CONSEQUENCES OF GENOME INSTABILITY IN CANCER

O. Brieieva

*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine*

Genome instability is currently considered one of the main drivers of tumor heterogeneity, clonal evolution, and cancer progression. At present, a wide range of genetic and epigenetic abnormalities associated with different stages of oncogenesis have been identified. It is believed that many of them may influence disease prognosis and therapy efficiency. In tumor cells, lesions are detected at different levels of genome organization that manifests by changes in both structure and number of single nucleotides and chromosomes. Depending on the kind of genetic changes, there are several types of instability: nucleotide, microsatellite, and chromosomal. Recent studies have significantly deepened our understanding of factors leading to the development of different types of genome instability. Among these factors, abnormalities of DNA replication and repair, exo- and endogenous genotoxic influences, unequal distribution of genetic material during mitosis, and epigenetic modifications are considered

the most significant. It is thought that mechanisms underlying genome instability may vary at different stages of oncogenesis. In addition, there is evidence of possible differences in the background of genetic changes and mutator phenotype in cells of patients with hereditary and sporadic forms of cancer. In particular, it is suggested that germline mutations in DNA repair and tumor suppressor genes play a key role in the development of genome instability in hereditary forms of cancer, whereas in sporadic tumors, such instability may be predominantly driven by replicative stress.

In this talk, the history of studies of genetic changes in cancer and modern views on their role in the malignant process will be highlighted. Particular attention will be paid to mechanisms that maintain genome integrity and decrease mutation rate. The results of own studies of genome instability in peripheral blood lymphocytes and tumor cells of endometrial cancer patients will be presented and its association with a family history of cancer and clinical and pathological features of patients will be discussed.

CHANGES IN THE INTACT MICE MACROPHAGES' POLARIZATION BY THE INFLUENCE OF BACILLUS SUBTILIS IMV B-7724 LECTIN

A. Chumak, V. Shcherbina, N. Fedosova

*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine*

Background. Macrophages (MFs) are highly plastic cells that are able to rapid change their functional activity (polarization) upon external stimuli and thus perform their functions in both physiological and pathological processes such as tumorigenesis. There are M1 and M2 types of MFs activated by classical or alternative ways that reflect pro- or antiinflammatory features respectively. Considering that the M1/M2 ratio determines the anti-tumor or pro-tumor strategy of MFs' behavior finding ways to regulate the MFs' polarization is important area of research.

The aim of study was to investigate the effect of *B. subtilis* IMV B-7724 lectin on the MFs' polarization of intact Balb/c mice.

Materials and methods. The study was performed on MFs of Balb/c mice that was treated with 0,02 mg/ml of *B. subtilis* IMV B-7724 lectin ex vivo during 24 h with further definition of NO/Arg production and mRNA STAT1/STAT6 expression ratios. Cultivation of MFs with 20 ng/ml of interferon gamma (IFN γ) and 100 ng/ml of LPS during 24 h served as control of MFs' polarization to M1 type.

Results. Complex influence of LPS and IFN γ caused increasing in the NO/Arg ratio up to 1.3 times compared with the same index in the intact mice, that is characteristic of the M1 phenotype. The similar changes of the NO/Arg ratio were observed in MFs after their treatment only with lectin (up to 1.4 times higher compare to intact control). Similar to the NO/Arg ratio, the as-

assessment of the M1/M2 polarization direction was assessed by the STAT1/STAT6 mRNA ratio. The same changes in STAT1/STAT6 mRNA expression levels' ratio was noted between Balb/c mice MFs co-cultivation with lectin or with LPS + INF- γ compare to intact mice (up to 1.7 times).

Conclusions. Effect of low concentration of *B. subtilis* IMB B-7724 lectin is similar to that observed after LPS and IFN- γ ' complex action and cause the MFs' polarization to the M1 type.

CELL SIGNALING IN CANCER BIOLOGY AND MANAGEMENT

I. Gordiienko

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

A signal transduction pathway is a series of steps by which a signal on a cell's surface is converted into a specific cellular response. Signal transduction, which occurs in each cell of the body, is largely required for the correct functioning of the whole organism. Regulation of cell cycle and proliferation, migration, differentiation, viability versus cell death, metabolism is not all processes that are coordinated by signal transduction pathways. That is why it is not surprising that deregulation in cell signaling may have a considerable impact on the homeostasis of the cell. This lecture will be discussed three main signaling pathways: JAK/STAT, Ras/MEK/Erk, and PI3K/Akt/mTOR by the reason, they are very frequently activated in all types of cancer and are common effectors of different upstream lesions. It will be discussed how to use knowledge about signal transduction pathways in normal and cancer cells for the development of target therapy. On the example of one signal molecule, cell surface receptor SLAMF1 or CD150 will be showed complexity, diversity, and multifunctionality of cell signaling and its potential in improving diagnosis, prognosis, and therapy prediction of cancer. The differential expression among various types of hematological malignancies allows considering CD150 as a diagnostical and potential prognostic marker. Moreover, CD150 may be a target for antibody-based or measles virus oncolytic therapy. Due to CD150 signaling properties, it is involved in the regulation of malignant cell fate decision and tumor microenvironment in Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukemia.

EXOGENOUS PLASMINOGEN/PLASMIN AFFECTS PROLIFERATION, MOTILITY, AND REDOX BALANCE IN BREAST CANCER CELLS DEPENDING ON ADAPTOR PROTEIN RUK/CIN85 EXPRESSION LEVELS

I. Horak, O. Hudkova, N. Latyshko, O. Yusova, K. Tokarchuk, M. Bekala, L. Drobot, A. Tykhomyrov

Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Background. Plasminogen (Pg) is a precursor protein of plasmin (Pm), an essential enzyme of tumor microenvironment. Pm proteolytic activity together with the effect of other molecules of plasminogen activation system are involved in the control of cancer cells adhesion, motility, invasion, and metastasis.

The aim of this study was to analyze the effect of exogenous Pg/Pm on the proliferation, motility, and redox state of cancer cells with different malignant properties correlated with increased/decreased expression of Ruk/CIN85.

Materials and methods. Mouse breast carcinoma 4T1 cells with stable overexpression (RukUp) or knock-down (Ruk/Down) of adaptor protein Ruk/CIN85 were used. Cells were cultured in complete RPMI-1640 medium under standard conditions, prior to Pg treatment cells were starved in serum-free medium overnight. Pg conversion into Pm was monitored spectrophotometrically by a cleavage of the specific chromogenic substrate S2251. Proliferation rate was estimated by MTT and colony growth assays, and motility — by *in vitro* scratch test. Activities of antioxidant enzymes and H₂O₂ production were evaluated by fluorometric assays. ROS amount was measured by flow cytometry with DCF-DA dye.

Results. Pg was converted into Pm on the surface of carcinoma cells in a dose-dependent manner. Specific inhibitor of urokinase (uPA) BC11 was shown to effectively suppress Pg conversion, indicating pivotal role of uPA in Pm appearance. It was demonstrated that Pg treatment (0–50 nM) suppressed proliferation of all studied cells sublines, yet RukUp cells were significantly less sensitive to Pg/Pm. Also, Pg turned out to decrease motility of RukDown cells, in contrast to control ones. Analysis of antioxidant system revealed that Pg treatment led to increase in superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in RukUp cells, but not in control cells. In addition, it was found that ROS content was increased gradually in control cells after short- and long-term Pg treatment, while RukUp cells exposed to Pg/Pm were able to maintain ROS generation at the stable low level.

Conclusion. The obtained data indicate that treatment with exogenous Pg suppressed viability and motility of cancer cells, probably, due to oxidative stress induced by Pm. Our results highlight that adaptor protein Ruk/CIN85 is necessary for cancer cells to acquire resistance to Pm-induced stress, in particular, by activating antioxidant defense.

This research was financially supported by the NASU grant «Support of priority for the state research and scientific and technical (experimental) developments» for 2020–2021.

IMPACT OF LANDOMYCIN A AND ITS WATER-SOLUBLE COMPLEX WITH POLY-2-OXAZOLINE NANOCARRIER ON KEY HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF MICE WITH B16F10/WT MELANOMA

Yu.S. Kozak, N.R. Skorokhyd, R.R. Panchuk, R.S. Stoika

Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine, Lviv, Ukraine

Background. Landomycin A (LA) is a novel promising experimental antitumor antibiotic. Poor stability in water-based ethanol solutions is the main disadvantage of this angucycline compound. So, LA was immobilized on poly-2-oxazoline nanocarrier (POx) to solve this problem. POx is an amphiphilic highly efficient copolymer for the preparation of water-soluble complexes with extremely hydrophobic drugs.

The aim of this work was to study hematological and biochemical profile changes in mice with B16F10/wt melanoma under treatment with LA and its complex with POx nanocarrier.

Materials and methods. Subcutaneous B16F10/wt melanoma inoculation method and method of blood collection from retro-orbital sinus in mice were used in this study. Hematological and serum biochemical analyses were done by DYMIND DF-51 hematology analyzer and BS-3000M biochemistry analyzer, correspondingly.

Results. Use of LA in complex with POx carrier towards mice with B16F10/wt melanoma normalized levels of RBCs, PLT, hemoglobin, and NLR ratio in their blood to healthy range on 30th and 120th day of the experiment. LA + POx nanocarrier treatment was accompanied by the massive increase in the number of T-lymphocytes, while the level of tumor-induced neutrophils was very low on the 30th day of the experiment. This indicates the strong immunomodulatory function of the POx carrier, thus significantly boosting the innate anticancer activity of LA. The number of WBCs and lymphocytes was partially reduced in animals treated with LA + POx nanocarrier complex on the 120th day after tumor inoculation. This phenomenon positively correlated with complete tumor regression in mice at this time point and thus indicates the crucial role of the immune system in the potentiation of anticancer activity of the LA + POx complex. Treatment of mice with B16F10/wt melanoma by LA immobilized on POx nanocarrier restored creatinine level, ALP-, AST activities, and De Ritis ratio in their serum to the level of healthy animals on 30th and 120th day after tumor inoculation.

Conclusion. The obtained results indicate the high promise of the use of novel poly-2-oxazoline-based multifunctional nanocarriers as a drug delivery platform for cancer therapy.

Acknowledgement. Authors are particularly grateful for the preparation of the water-soluble complex of LA with POx nanocarrier and the support given by colleagues from Wurzburg University.

RELATIVE EXPRESSION OF THE MRPS18 FAMILY GENES IN GLIOBLASTOMAS

L. Kovalevska¹, S. Kalman¹, T. Malysheva², A. Rozumenko², L. Verbova², V. Rozumenko², E. Kashuba¹

¹*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine*

²*The State Institution Romodanov Neurosurgery Institute of NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

Background. The three mitochondrial ribosomal proteins S18 (MRPS18-1-3) form a family. The proteins show low homology to each other and might play different roles in cancerogenesis (Mushtaq M. et al., *Oncotarget*, 2016). Taking into consideration the crucial role of MRPS18-2 in tumor development, it is important, to study an expression pattern of other two family members in various cancer types.

Aim: to compare relative expression levels of the S18 family genes in glioblastoma patients, in both, tumor tissue samples and in blood sera, and in established glioma cell lines as well.

Materials and methods: the tissue and blood serum of nine patients with glioblastoma of the brain; 2 cell lines, obtained from glioblastoma, 2 cell lines, produced from astrocytoma, 2 primary cultures of glioblastoma, and the rhabdomyosarcoma cell line. RNA isolation from the tissue and serum, a quantitative PCR analysis, a bioinformatic analysis of the publicly available data bases on expression. All experiments on human samples were performed, according to the Declaration of Helsinki.

Results. The MRPS18 family genes demonstrated various expression patterns in glioblastomas and in glioma cell lines. The relative expression of the *MRPS18-2* gene at mRNA and protein levels was the highest, compared to other two family members, as in in glioblastoma tissues, as in glioma cell lines. In glioblastoma patient sera the highest expression levels was detected for the *MRPS18-3* gene. The *MRPS18-1* gene expressed at the lowest levels, compared to other genes. Of note, the relative expression of all MRPS18 family genes in patient sera was one magnitude lower, than in tissue. In sera of 4 healthy donors these genes were barely detected. The bioinformatic analysis of the data deposited to OncoPrint and Protein Atlas portals, corroborated our experimental results.

Conclusions. The relative expression level of the *MRPS18-2* gene is high in glioblastoma tumor tissues and glioma-derived cell lines, compared to other two members of the MRPS18 family. A larger cohort of glioblastoma patients should be studied, to confirm these preliminary data.

This work was supported by the Emil and Wera Corneils Foundation (094-2020) and by the Academy of Science of Ukraine (grant № 0119U103905).

EVALUATION OF CELL VIABILITY UNDER THE THZ IRRADIATION

L. Kovalevska¹, E. Kulagina¹, O. Golenkov², F. Syzov²,
E. Kashuba¹

¹R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine

²V. Lashkaryov Institute of Semiconductor Physics,
NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Background: The THz radiation (a wavelength is 10 μm — 1 mm and a frequency 0.1–10 THz) draws nowadays much attention, due to its application in astronomy, security screening, imaging, biomedicine, etc. (Sizov F, SPQEO, 2019). Such approaches gave rise to a question on influence of the THz irradiation on biological objects, especially on cells of a human body.

Aim: to perform a comparative study to evaluate the viability of normal and cancerous cells upon irradiation with a steady beam of THz rays.

Materials and methods. An experimental system was built up, consisting of the radiation source with a rectangular acoustic horn antenna, vertical translation stage, a well in a polystyrene plate, and the timer. The human mononuclear cells, isolated from buffy coat blood, and cancerous cells of the B- and T-cell origin (RAMOS and Jurkat, respectively) were studied.

Results. The primary fragile human mononuclear blood cells showed increased death rate upon the 0.14 THz irradiation, compared to non-irradiated cells, kept at the same conditions in the IMDM medium, supplemented with FBS and appropriate antibiotics. The RAMOS and Jurkat cells showed the moderate effect while irradiated with the THz waves. At 15 m after starting irradiation, both cell lines showed similar value of viability — approximately 75%. In this sense, they behaved similarly to primary mononuclear blood cells.

Conclusions. The THz radiation can result in the death of human mononuclear blood cells. However, mechanism of this phenomenon is largely unknown. No doubt, more work should be done to shed some light on the mechanisms of action of the THz irradiation on the living organisms, to speed up the technologic developments.

POTENTIAL NUCLEIC ACID TUMOR MARKERS IN URINE SAMPLES FROM PATIENTS WITH PROSTATE CANCER

O.S. Mankovska^{1,3}, A.S. Korsakova²,
K.R. Cherniavskyi², V.I. Svintytska³, O.A. Kononenko⁴,
E.O. Stakhovskyy⁴, Yu.M. Bondarenko⁵, V.I. Kashuba¹

¹Institute of Molecular Biology and Genetics,
NAS of Ukraine

²National Taras Shevchenko University of Kyiv, Ukraine

³National University of «Kyiv-Mohyla Academy»,
Ukraine

⁴National Cancer Institute, Ministry of Health of Ukraine

⁵Institute of Urology, NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Background. Prostate cancer (PCa) is the second of the most common malignancies in men worldwide, also

famous by its heterogeneity, which complicates its diagnosis and prognosis. Changes in methylation of genes' promoters, expression of cell-cycle related genes, levels of non-coding RNAs can be the signs, that together are able to identify and characterize the malignancy and also help to choose the appropriate adjuvant therapy. Importantly, that markers, which can be detected non-invasively, are favorable for diagnostic and prognostic purposes.

The aim of current research was to identify epigenetic and expression changes in nucleic acids from urine of PCa patients and investigate the correlation relationships within these alterations.

Materials and methods. The urine samples of PCa patients and of patients with mixed inflammatory disease of genitourinary system were obtained from the National Cancer Institute and Institute of Urology, respectively. The control urine was obtained from healthy volunteers. Urine was separated on cell-free fraction and cell-containing sediment. Cell-free urine was used for study of the methylation of cell-free DNA and levels of lncRNA PANDAR, while the cells from urine were used for study of *AURKA*, *AURKB*, *AURKC* and *BRAF* expression. DNA was precipitated by CTAB and isolated using phenol-chlorophorm-isoamyl method. RNA was isolated with Trizol. We studied methylation by methyl-specific PCR method followed by agarose gel electrophoresis. The RNA levels in cell-free urine and relative expression in cells were analyzed by RT PCR.

Results. We studied methylation of *KRT18*, *PTEN*, *CDH1*, *NKX3.1*, *RASSF1A* and *GDF15*. Methylation of all of these genes was more common in samples from patients with prostate cancer than in healthy donors, but also appeared in samples from people with genitourinary inflammation. The best combination, that can discriminate patients with PCa and those without cancer is a combination of methylated *PTEN*, *CDH1*, *NKX3.1*, *RASSF1A* and *GDF15*. In urine-derived cells, *AURKA* expression was significantly higher in patients with prostate cancer than in non-cancer patients. Interestingly, that expression of *BRAF* in patients with PCa correlated with the expression of the *AURKC*, and in the urine cells of people without cancer — with the expression of *AURKA* and *AURKB*. After analyzing the correlation of genes' expression in urine cells and PANDAR lncRNA levels in cell-free urine, we found positive correlations between PANDAR levels and *AURKC* and *BRAF* expression.

Conclusion. All of studied changes can be potentially informative for PCa diagnosis and prognosis, but the role of them separately and in combination should be investigated in further research.

EVALUATION OF THE MICRORNAS EXPRESSION LEVEL IN HUMAN GLIOBLASTOMA SAMPLES AND NORMAL ADJACENT TISSUES

O. Pidhypenets, O. Savchenko, H. Svitina, I. Skrypkinia

*Institute of Molecular Biology and Genetics,
NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

Background. Glioblastoma multiforme (GBM) is one of the most malignant types of human cancers with a median survival of approximately 15 months from the diagnosis. The survival rate during five years is only about 6.8%. Additionally, a crisis in developing and implementing therapies for GBM builds heavy obstacles for dealing with this type of brain cancer. As a result, there is an urgent need to study the molecular features of GBM and specific genes and/or their regulators involved in the initiation and progression of cancerogenesis. One perspective tool to control the post-translational processes of regulation of genetic information transmission may be miRNAs. miRNAs have been shown to be dysregulated in numerous pathologies, especially in cancers, and are already proposed as wide diagnostic markers.

Aim. To investigate the expression level of a particular set of microRNAs in primary GBM tissue samples compared to normal tissues.

Materials and methods. 24 samples with primary GBM and 24 normal adjacent brain tissues were collected from patients who underwent surgical removal of GBM tumors at the State Institution «Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine». The level of selected miRNAs was detected by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. SPSS version 27.0 software (SPSS Inc.) was used for statistical analysis. Mann — Whitney U test was used for comparisons between two groups. A two-tailed p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results. Our findings indicate that miR-19b-3p, miR-21-5p and miR-24-3p were up-regulated in GBM samples in comparison to normal tissues statistically significant ($p < 0.05$). At the same time, miR-27a-3p, miR-24a-5p, miR-145-5p and miR-181a-5p were not changed. miR-92a-3 tend to be elevated, while the level of miR-30a-5p and miR-486-3p were down-regulated.

Conclusion. Our results elaborate the knowledge about the dynamics of microRNAs in glioblastoma tumors and allow to predict involved in GBM progression genes.

DETERMINATION OF SPERMINE IN THE URINE OF PATIENTS WITH PROSTATE CANCER USING GOLD NANOPARTICLES

M.P. Prylutskyi, Yu.V. Yanish, S.P. Zaletok

*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine*

Background. Early diagnostics of prostate cancer (PC) is a key factor for its successful treatment. Gold nanoparticles (AuNPs), due to their optical properties, can be used in ultrasensitive methods for the diagnostics of cancer. Therefore, spermine (Spn), due to its ability to bind AuNPs is very promising agent for prostate cancer diagnostics.

Aim. The aim of the study was to develop a spectrophotometric sensitive method for the determination of Spn in the urine of patients with PC using AuNPs.

Materials and methods. Adsorption spectroscopy was used to record the absorption spectra of AuNPs stabilized with sodium citrate during their binding to spermine in model solutions and in the urine of patients with prostate cancer in the range 200–1000 nm by comparing the intensity of light absorption in different radiation spectra of localized plasmon resonance (ISPR) in AuNPs. There were used urine samples of 30 patients with I–IV stage of PC.

Results. The possibility of using AuNPs in colloidal solutions for the detection of Spn in the presence of other polyamines (PAs) and urea was investigated. It was found that the presence of other PAs (spermidine, putrescine) doesn't affect the determination of Spn. It was shown that the presence of urea doesn't interfere with the determination of Spn, as it doesn't affect formation of ISPR, which arose because of association of Spn with AuNPs. It was shown that even ultra-high concentrations of urea $1,3 \times 10^{-2}M$ don't cause aggregation of AuNPs and don't interfere with the detection of Spn. However, it was found that the presence of urea in physiological concentrations ($6,7 \times 10^{-3}M$ and $3,4 \times 10^{-3}M$) promotes faster emergence of the associations of AuNPs connected among themselves through Spn. It was studied a weak stimulating effect of urea on the appearance of ISPR during determination of Spn in model solutions, which gradually increases depending on the incubation time. During study of urine of PC patients, it was observed that the maximum shift of ISPR in the control samples is in range of 570–650 nm and 1.04–1.14 optical units (o. u.), while the values obtained in patient samples are significantly lower, and are in the range of 405–525 nm, and 0.63–0.78 respectively.

Conclusions. The possibility of selective determination of Spn in the presence of other PAs and urea, using AuNPs in model experiments in the urine of patients with PC has been established. These data will be used to create a new method for diagnosing PC and to predict the course of the disease.

TOLL-LIKE RECEPTORS' FAMILY MEMBERS ARE INVOLVED IN POSITIVE REGULATION OF CD150 EXPRESSION LEVEL IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA B CELLS

V. Shcherbina, I. Gordiienko, L. Shlapatska

*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine*

Background. Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a disease characterized by significant molecular heterogeneity of malignant B lymphocytes, which causes variability in the clinical features. One of the reasons for this heterogeneity is the state of intracellular signaling networks and differentially expressed receptors. In particular, we have previously shown that the presence of CD150 expression on CLL B cells is a sign of a favorable disease outcome and is associated with higher efficacy to some chemotherapy drugs. Therefore, finding ways

to upregulate cell surface CD150 expression on CLL B cells with low or absent CD150 expression is a perspective direction that may allow to regulate biological properties of malignant B cells. Among the potential inducers we choose Toll-like receptors (TLRs) 2, 4, 6 which are known as positive regulators of CD150 expression in macrophages and dendritic cells.

The aim of our study was to explore whether activation of TLR2/TLR4/TLR6 on CLL B cells led to regulation of CD150 receptor's expression in these cells.

Materials and methods. The study was performed on peripheral blood mononuclear cells isolated from 10 previously untreated patients with CLLs. TLR2/TLR6 and TLR4 activation on CLL B cells were done using its agonists (FSL-1 and K12LPS respectively) in different concentrations with followed qPCR and western blot analysis of CD150 isoforms and protein expression.

Results. Activation of TLR2/TLR6 on CLL B cells led to a significant increase in the mRNA expression levels of mCD150, nCD150 and sCD150 isoforms of CD150 receptor. The most pronounced effect of TLR2/TLR6 activation was observed in relation to the nCD150 isoform with the 3 times higher mRNA expression level compared to control. Agonist of TLR4 K12LPS, regardless of its concentration, induced up-regulation of mCD150 isoform mRNA expression level. However, we noted the multidirectional regulation of mRNA expression level of nCD150 isoform in CLL B cells incubated with K12LPS. In particular, low doses of K12LPS (50 ng/ml) led to decrease of nCD150 mRNA expression level while at high doses (100 ng/ml and 200 ng/ml) effect was opposite (nCD150 mRNA expression level was up to 2.27 times higher compare to control). Activation of both TLR4 and TLR2/TLR6 on CLL B cells, regardless of their concentration in culture media, induced increase expression of total CD150 protein.

Conclusions. TLR2/TLR4/TLR6 are engaged in positive regulation of CD150 in CLL B cells both on its mRNA and total protein levels. Given the previous data that the presence of CD150 expression in CLL B cells associated with their sensitivity to cytostatics, obtained results can be used as one of the possible mechanisms to increase the expression of CD150 on CLL B cells and as a consequence increase the effectiveness of some cytostatics. However, this hypothesis requires further comprehensive research.

DNA LOOP DOMAIN ORGANIZATION IN GLIOBLASTOMA ASTROCYTOMA CELL LINES U373 AND U251

*K. Svyrydova, V. Vasylieva, A. Martyniak, K. Afanasieva
Taras Shevchenko National University of Kyiv,
Kyiv, Ukraine*

Background. Glioblastomas are the most common primary intracranial malignancies in adults. Glioblastoma astrocytoma U373 cell line is frequently used as a model object for studying pathogenesis of this type of cancer. However, the identity of this cell line has often been questioned due to its cross-contamination by an-

other glioblastoma astrocytoma cells U251. Thus, the chromatin organization in these cell lines requires special attention.

The aim of our study was to investigate DNA loop organization in two glioblastoma astrocytoma cell lines — U373 and U251.

Materials and methods. Cells were maintained at 37 °C in DMEM medium supplemented with 10% fetal bovine serum and antibiotics. Then cells were put into the same medium without serum and incubated for 48 hours. After that cells were collected by centrifugation, washed twice with Hanks' salt solution and used for the preparation of nucleoids. Next, the neutral comet assay was performed according to the standard protocol. Briefly, the cells embedded in agarose on microscope slides were treated with the lysis buffer overnight. After that several slides were washed with TBE buffer and put into the electrophoresis tank with the same buffer. Then they were taken out every 10 minutes of electrophoresis, stained with DAPI and immediately analyzed with a fluorescent microscope. Using image analysis software CometScore the relative amount of DNA in the tails and the tail length in the nucleoids on each slide were determined.

Results. We used the kinetic approach to assess the DNA loop domain organization in the glioblastoma astrocytoma cell lines. It was shown that the contour length of the surface loops was almost similar in both types of cells and was ~0,07 and ~0,08 in U373 and U251, respectively. The loop density was ~0,067 kb⁻¹ in both cell lines.

Conclusion. The obtained results indicate similar chromatin loop organization in U373 and U251 cell lines. The comparative characteristics of the DNA loop domain organization between the above mentioned cells and another glioblastoma cell line T98G was performed and the results will be discussed.

FEATURES OF CHANGES IN POLYAMINES IN CYSPLATIN-RESISTANT GEREN CARCINOMA STRAIN TISSUE IN GROWTH DYNAMICS

*Yu.O. Tsaryk, O.O. Klenov, V.V. Bentrad, S.P. Zaletok
R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine*

Background. The results of many studies have shown that malignant tumors of humans and animals are characterized by intensification of the synthesis of polyamines (PA) and the accumulation of their significant amounts in tumor tissues. The study of metabolic processes in tumor cells that may be involved in the formation of resistance of malignant tumors to chemotherapy is relevant for practical oncology, as it is associated with the prospects for successful treatment of cancer patients.

Aim: To investigate the levels of PA in the tissue of the original and cisplatin-resistant strains of Guerin's carcinoma in the dynamics of growth.

Materials and methods. Determination of PA content in biomaterials was performed by high pressure liquid chromatography on Agilent 1200 liquid chromatography.

graph. A Supelko Zorbax ODS 4.6 mm ID • 250 mm column was used for analysis. PA levels were determined after derivatization with dansyl chloride at a wavelength of 342 nm and emission of 512 nm.

Results. Studies of the levels of the main fractions of PA (spermine, spermidine, putrescine) in the tumor tissue of the original and cisplatin-resistant strains of Guerin's carcinoma in the dynamics of tumor development. Analysis of the results showed that as the original strain of Guerin's carcinoma (from 10 to 15 days) in tumors increases the level of putrescine, spermidine and the molar ratio of spermidine/spermine (Spd/Spn). The highest values of these indicators were found on the 15th day of development. On 19th day, PA levels decreased rapidly and the value of the Spd/Spn ratio decreased.

Studies of the content of PA in the growth dynamics of cisplatin-resistant Guerin's carcinoma, the highest levels of putrescine, spermidine and the molar ratio of Spd/Spn were detected on the 13th day of tumor development. On the 17th day, these rates decreased, and spermine levels remained mostly unchanged. The level of putrescine remains higher in the tissue of the resistant strain of Guerin's carcinoma, compared with the original strain. In contrast, Spd and Spn levels in cisplatin-resistant Guerin's carcinoma on the 9th and 13th day of tumor development were lower than in the original strain. Therefore, the results of the study indicate differences in the metabolism of PA in resistant tumors compared with sensitive ones. It is possible to make assumptions about the importance of such changes for the formation of tumor resistance to cytostatics.

Conclusions. The obtained data on changes in PA in resistant tumors can be further used to develop new, effective approaches to tumor chemotherapy, in particular with the help of PA analogues and inhibitors of ornithine decarboxylase, an enzyme that produces putrescine.

PROPHYLACTIC ACTION OF MELANIN ON THE MUCOUS MEMBRANE OF THE STOMACH WITH ITS PRECANCEROUS CHANGES

O. Voronina, T. Beregova

ESC «Institute of Biology and Medicine» of Taras Shevchenko National University, Kyiv, Ukraine

Background. Nowadays, search and study of potential medicines is extremely demanded, especially when it comes to precancerous states. Among substances of a natural origin, the endogenous pigment melanin fell into focus — a polyphenolic compound, which anti-inflammatory, antioxidant, stress-protective, anti-ulcer actions have been demonstrated. However, effects of melanin in acid-associated diseases of the digestive tract accompanied by hypoacidic gastric juice, remains unrevealed. It is known that reduced acidity of gastric juice can lead to formation of malignant neoplasms of stomach glands. Thus, the prevention of such a transformation is a very important problem, and the search for cytoprotective substances is very demanded.

The aim of this project was to study the protective effect of melatonin on the mucous membrane of the fundus during its malignancy.

Materials and methods. Long-term hypergastrinaemia in male adult Wistar rats was induced by daily i.p. injections of omeprazole (14 mg/kg bw). Melanin (0,1 mg/kg bw) was given i.p. to omeprazole-treated rats daily during 28 days. The response of gastric antral mucosa was evaluated with histological examination and morphometrical measurements.

Results. The mucous membrane of the fundus of stomach in control rats was normal, without pathological changes. After 28 days of exposure to omeprazole, signs of dysplasia changes appeared in the mucous membrane of experimental rats, including glandular atrophy, hypertrophy of the mucous membrane, changes of the polarity of the epithelial cells, increase of glandular cells nuclear-cytoplasmic ratio, the appearance of undifferentiated cells, sometimes cervical mucocytes, and significant decrease in nuclear size of endocrine cells. Also, infiltration of the mucosa by lymphocytes was widely observed. Simultaneous administration of omeprazole and melanin during 28 days was shown to prevent the described changes in the mucous membrane of the stomach fundus, indicated by nearly all measured parameters, excepting the increased width of the mucous membrane. No signs of inflammation and some hemorrhages were observed in the mucous membrane of the stomach. Cells of different types were clearly distinguished, with small amount of undifferentiated cells found.

Conclusion. Administration of melanin against the background of prolonged omeprazole-induced hypergastrinemia was found to prevent carcinogenic changes in the mucous membrane of the stomach, in terms of abnormal cellular proliferation and atypical degeneration of epithelial cells.