

3. Biodistribution and fate of nanodiamonds in vivo / Y Yuan [et al.] // Diamond and related materials. – 2009. – № 18(1). – P. 95 – 100.
4. Vaijayanthimala V. Functionalized fluorescent nanodiamonds for biomedical applications / V.Vaijayanthimala, H-C.Chang // Nanomedicine London England. – 2009. – № 4(1). – P. 47 – 55.
5. Preparation and characterization of green fluorescent nanodiamonds for biological applications / T.-L. Wee [et al.] // Diamond and Related Materials. – 2009. – № 18(2-3). – P. 567-573.
6. Polymer-functionalized nanodiamond platforms as vehicles for gene delivery / X. Q. Zhang [et al.] // ACS Nano. – 2009. – № 22(3). – P. 2609 – 2616.
7. Nanodiamond-insulin complexes as pH-dependent protein delivery vehicles / R.A. Shimkunas[et al.] // Biomaterials. – 2009. – № 30(29). – P. 5720–5728.
8. Barnard A. Diamond standard in diagnostics: nanodiamond biolabels make their mark // Analytical. – 2009. – № 134(9). – P. 1751 – 1764.

9. Robertson J Case-control Study of Circulatory, Malignant and Respiratory Morbidity in Carbon Black Workers in the USA / J Robertson, T Ingalls // American Industrial Hygiene Association Journal. – 1989. – № 50(10). – P. 510 – 515.
10. Ingalls T Periodic Search for Cancer in the Carbon Black Industry / T Ingalls, R.Risques-Iribarren // Archives of Environmental Health. – 1961. – № 2. – P. 429 – 433.
11. Ingalls T. Incidence of Cancer in the Carbon Black Industry // Archives of Industrial Hygiene and Occupational Medicine. – 1950. – № 1. – P. 662 – 676.
12. Кузнецов А. Ветеринарный медицинский справочник / А. Кузнецов. – Санкт Петербург : Лань, 2004.

Надійшла до редколегії 22.12.15

В. Лавриненко, соискатель, Ю. Чайковский, д-р мед. наук, Л.Дегтярева, д-р мед. наук
Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ АЛМАЗНЫХ НАНОЧАСТИЧЕК И ТЕХНИЧЕСКОГО УГЛЯ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ

Определяли биологическое влияние наноразмерных материалов на почки куриных эмбрионов, полученных при инкубации яиц линии Хай-Лайн белый. Суспензию алмазных наночастичек и технического угля на биосовместимом декстрани ввели в желточный мешок зародышей на 3 сутки инкубации и проводили оценку состояния тканей почек на 14 и 20 сутки инкубации. При одинаковых условиях с экспериментальными группами инкубировали яйца из контрольной группы, которым производили введение декстрана без примесей. Продемонстрировано альтерирующее влияние обоих исследуемых материалов на органы выделения зародышей. Они вызывают отеки, дистрофию, образование кальцификатов. Статистически продемонстрировано увеличение площади эпителия почечных канальцев в экспериментальных группах в связи с развитием белковой дистрофии и отеков эпителиоцитов.

Ключевые слова: алмазные наночастицы, технический уголь, токсический эффект.

V. Lavrinenko, applicant, Y. Tchaikovskiy, DMC, L. Degtiarova, DMC
Bogomolets national medical university, Kyiv, Ukraine

BIOLOGICAL EFFECT OF NANODIAMONDS AND SOOT ON STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CONDITIONS OF CHICKEN EMBRYO KIDNEYS

The biological impact of nano-sized materials on kidneys of chicken embryos obtained from incubation of eggs from High-Line white was researched. Suspension of nanodiamonds and soot on bio-friendly dextrane was injected into the yolk sac of embryos on the third day of incubation and the condition of kidney tissues on the 14th and 20th days of incubation was studied. Under the same conditions as experimental groups the eggs from the control group with injection of pure dextrane were incubated. The alteration effect of both researched materials on excretory organs of the embryo was shown. They cause edema, dystrophy and formation of calcificates. The increase of the kidney channels epithelium area due to proteinosis and edema of epitheliocytes was statistically proved for both experimental groups.

Key words: nanodiamonds, soot, toxic effect.

УДК 577.156:577.15.072

И. Вовчук, д-р биол. наук
Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ А НЕИЗМЕНЕННОЙ И ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ И ЯИЧНИКОВ

Исследован качественный и количественный состав препарата карбоксипептидазы А, полученной из не измененной ткани и тканей доброкачественных и злокачественных опухолей эндометрия и яичника. Показано, что развитие неопластического процесса характеризуется увеличением количества диаминомонокарбоновых кислот в ткани эндометрия и уменьшением количества этих аминокислот в опухолевых тканях яичника. Доля моноаминодикарбоновых аминокислот, вносящих свой вклад в суммарный заряд белковой молекулы уменьшается по мере прогрессии опухолевого процесса в яичниках и увеличивается в молекуле карбоксипептидазы А доброкачественной опухоли эндометрия. Установлено, что по мере прогрессии опухолевого процесса в ткани яичника увеличивается содержание гидроксил-содержащих аминокислот, потенциально способных участвовать в катализе. Количество цистеина в ферменте, выделенном из опухолевых тканей как яичника так и эндометрия значительно ниже, чем в ферменте из не измененных тканей этих органов и снижается по мере развития опухолевой прогрессии. Полученные результаты свидетельствуют о том, что карбоксипептидаза А не измененной и опухолевых тканей яичника и эндометрия значительно отличается по качественному и количественному составу аминокислот.

Ключевые слова: карбоксипептидаза А, аминокислотный состав, опухоль, эндометрий, яичник.

Введение. Карбоксипептидаза (КФ 3.4.2.1) А играет важную роль в жизнедеятельности организмов. Установлено, что карбоксипептидаза А участвует в клеточном катаболизме нормальных и аномальных белков, токсинов; в регуляции метаболизма клеток; в ограниченном протеолизе молекул предшественников биологически-активных пептидов и полипептидов; в активации проферментов и других эффекторов белковой природы. Специфическая роль карбоксипептидазы А заключается в деградации специфического мембранно-связанного рецептора I карра В-beta, активации фактора некроза (NF-карра В) и активации синтеза макрофа-

гами специфического белка – тканевого фактора некроза опухоли (TNF-alpha protein) [9]. Изучение регуляции активности карбоксипептидазы А как на молекулярном, так и на тканевом уровнях и сравнительные исследования биохимических свойств карбоксипептидазы А не измененной и опухолевой ткани возможны только в случае получения этих ферментов в очищенном виде.

Несмотря на то, что гомогенный препарат карбоксипептидазы А был получен из некоторых органов и тканей человека: легких [8], поджелудочной железы [13], плаценты [14], почек [10], семенной жидкости [15], культуры клеток карциномы легких [6],

аминокислотный состав и биохимические свойства выделенных ферментов не были всесторонне изучены.

Цель исследования состояла в изучении аминокислотного состава карбоксипептидазы А, полученной из не измененной и опухолевых тканей эндометрия и яичника.

Материалы исследования. Для выделения карбоксипептидазы использовали образцы резецированной в ходе оперативного вмешательства ткани новообразований эндометрия и яичников женщин, которые не получали до операции медикаментозное лечение. Материал для исследования был предоставлен патоморфологической лабораторией Одесского областного онкологического диспансера. Патоморфологическую и гистологическую верификацию диагнозов по требованиям ВОЗ проводили гистологи сертифицированной и лицензированной патоморфологической лаборатории Одесского областного онкологического диспансера. Взятие анатомических материалов для диагностических исследований, соблюдение этических и правовых норм согласно: Хельсинской декларации (1964 г.), Конвенции о защите прав и достоинств человека в связи с использованием достижений биологии и медицины (Конвенция о правах человека и биомедицине 1996 г.), закона Украины " О трансплантации органов и других анатомических материалов человеку (1999 г.) обеспечивалось медицинским учреждением, предоставляющим материал для исследования, согласно договору о совместных исследованиях.

Исследования проводили с препаратами карбоксипептидазы А, полученными из не измененной и опухолевых тканей эндометрия и яичника. Гомогенность выделенных ферментов была подтверждена методом электрофореза в системе SDS. Исследовали аминокислотный состав препаратов не измененных тканей эндометрия и яичника (в которых по данным гистоморфологического исследования было подтверждено отсутствие атипичных клеток), умеренно дифференцированных аденокарциномы эндометрия и цистаденокарциномы яичника (злокачественные новообразования) и доброкачественных новообразований эндометрия и яичника.

Методы исследования. Аминокислотный анализ полученных препаратов фермента проводили на автоматическом анализаторе аминокислот: ILC-3BC (Япония). Гидролиз образцов осуществляли в 6,0 М HCL в соотношении 1:500 при +105°C в герметических закупоренных флаконах в течение 24 часов. После гидролиза пробы упаривали в роторном испарителе "Ротадест" (Венгрия) и осадок растворяли в 0,2 М HCL.

Хроматографию гидролизатов проводили по Муру и Штейну [11]. Содержание триптофана определяли в нативном белке методом Гайтона [7]. Метионин определяли колориметрически нитропруссидным методом [1]. Цистеин определяли на анализаторе аминокислот после предварительного окисления белков надмуравьиной кислотой и последующего их гидролиза в 6 М HCL [12]. Содержание пролина определяли колориметрически с помощью нингидринового реактива [4]. Лизин определяли энзиматическим методом с использованием l-лизиновой декарбоксилазы ("Кальбиохем", США) на автоматическом анализаторе фирмы "Техникон" (США).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни, предназначенного для сравнения независимых выборок [2].

Результаты и их обсуждение. Несмотря на близкие значения молекулярной массы, препараты карбоксипептидазы А, выделенной из и опухолевых тканей яичника и

эндометрия значительно отличаются по аминокислотному составу как между собой, так и от фермента из поджелудочной железы быка (табл. 1). Установлено, что образцы карбоксипептидазы А, выделенные из не измененной ткани яичника и эндометрия наиболее близки между собой по количеству глицина, гистидина, изолейцина, пролина, глутаминовой кислоты и практически не отличаются по количеству тирозина, серина, треонина, аланина, лейцина, аспарагиновой кислоты, цистеина и метионина. Наибольшие отличия между исследуемыми образцами не измененных тканей яичника и эндометрия установлены для фенилаланина, лизина и аргинина, содержание которых выше в препарате карбоксипептидазы А яичника и для триптофана, содержание которого в 10,0 раз выше в препарате фермента из не измененной ткани эндометрия.

В результате исследований было установлено, что процесс малигнизации сопровождается изменением аминокислотного состава как в опухолевых тканях яичника, так и в опухолевых тканях эндометрия, однако это изменение неоднозначно. Развитие процесса малигнизации в ткани яичника сопровождается снижением содержания лизина, аргинина, фенилаланина, валина, лейцина и изолейцина, а в ткани эндометрия наоборот – увеличением содержания этих аминокислот в 1,5 – 3,0 раза. Было установлено, что процесс малигнизации сопровождается снижением содержания аспарагиновой и глутаминовой кислот в опухолевых тканях обоих органов и снижением в 1,4 – 1,7 раза содержания глицина и аланина в ткани эндометрия. Содержание пролина практически не изменяется в процессе малигнизации в ткани яичника и увеличивается в 1,8 раза в ткани эндометрия. Содержание серина увеличивается в 1,71 – 2,0 раза в ткани яичника и снижается в 1,5 – 2,6 раза в ткани эндометрия. Содержание треонина практически не изменяется в процессе малигнизации ткани яичника и увеличивается в 2,5 раза при развитии опухолевого процесса в ткани эндометрия.

В литературе известно лишь несколько карбоксипептидаз, охарактеризованных по аминокислотному составу [3, 5]. Выделенные образцы карбоксипептидазы А значительно отличаются по аминокислотному составу от карбоксипептидазы А поджелудочной железы крупного рогатого скота. Однако обнаружено наибольшее сходство по количеству основных аминокислот: лизина и аргинина и HO-содержащих аминокислот между карбоксипептидазой А поджелудочной железы крупного рогатого скота и образцами фермента из не измененной и опухолевых тканей эндометрия и яичника. Так, по количеству лизина карбоксипептидаза А поджелудочной железы крупного рогатого скота подобна ферменту, выделенному из ткани доброкачественной и злокачественной опухоли эндометрия, а по количеству аргинина – ферменту из не измененной ткани яичника и из ткани доброкачественной и злокачественной опухоли эндометрия. Следует отметить, что установлено большое сходство между ферментом поджелудочной железы крупного рогатого скота и образцами карбоксипептидазы А, выделенными из не измененной ткани как яичника так и эндометрия.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что карбоксипептидаза А не измененной и опухолевых тканей яичника и эндометрия значительно отличается по качественному и количественному составу аминокислот.

Такое количественное изменение аминокислотного состава в свою очередь способно влиять на сум-

марный заряд молекулы фермента и его физико-химические свойства.

Выводы.

1. Развитие неопластического процесса характеризуется увеличением количества диаминомонокрибоновых кислот в ткани эндометрия и уменьшением количества этих аминокислот в опухолевых тканях яичника.

2. Доля моноаминодикарбоновых аминокислот, вносящих свой вклад в суммарный заряд белковой молекулы уменьшается по мере прогрессии опухолевого процесса яичниках и увеличивается в молекуле карбоксипептидазы А доброкачественной опухоли эндометрия.

3. По мере прогрессии опухолевого процесса в ткани яичника увеличивается содержание гидроксил-содержащих аминокислот, потенциально способных участвовать в катализе.

4. Количество цистеина в ферменте, выделенном из опухолевых тканей как яичника так и эндометрия значительно ниже, чем в ферменте из не измененных тканей этих органов и снижается по мере развития опухолевой прогрессии.

Список использованных источников

1. Зелинский В. Г. Количественное определение метионина в зерне с использованием ферментативного гидролиза // Биохимические методы исследования селекционного материала. Сборник научных трудов. – Одесса: ВСГИ, 1979. – Вып. XV. – С. 29-35.
2. Лапач С. Н. "Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel" / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К.: Морион, 2000. – 320 с.
3. Пилявская А. С. Выделение и свойства карбоксипептидазы *Streptomyces Griseus*. Дисс. на соискание к. б. н., Киев, 1977. – 133 с.
4. Bates L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil. – 1973. – Vol. 39, № 1. – P. 205-207.

I. Vovchuk, D-р біол. наук

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

АМИНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД КАРБОКСИПЕПТИДАЗИ А НЕЗМІНЕНОЇ ТА ПУХЛИННИХ ТКАНИН ЕНДОМЕТРІЯ ТА ЯЄЧНИКІВ

Досліджений якісний і кількісний склад препарату карбоксипептидази А, що отримана з не зміненої тканини і тканин доброякісних і злоякісних пухлин ендометрія та яєчника. Показано, що розвиток неопластичного процесу характеризується збільшенням кількості діаміномонокрибонових кислот в тканині ендометрія та зменшенням кількості цих амінокислот в пухлинних тканинах яєчника. Частка моноамінодикарбонових амінокислот, що вносять свій вклад в сумарний заряд білкової молекули зменшується у міру прогресії пухлинного процесу в яєчниках і збільшується в молекулі карбоксипептидази А доброякісної пухлини ендометрія. Встановлено, що у міру прогресії пухлинного процесу в тканині яєчника збільшується вміст гідроксил-амінокислот, які потенційно здатні брати участь в каталізі. Кількість цистеїну у ферменті, виділеному з пухлинних тканин як яєчника так й ендометрія значно нижче, ніж у ферменті із не змінених тканин цих органів і знижується у міру розвитку пухлинної прогресії. Отримані результати свідчать про те, що карбоксипептидаза А не зміненої та пухлинних тканин яєчника та ендометрія значно відрізняється за якісним і кількісним складом

Ключові слова: карбоксипептидаза А, амінокислотний склад, пухлина, ендометрій, яєчник

I. Vovchuk, DSc

Odessa National University of I.I. Mechnikov, Odessa, Ukraine

AMINO-ACID CONTENT OF A CARBOXYPEPTIDASE A FROM NON- MALIGNANT AND TUMOR TISSUES OF ENDOMETRIUM AND OVARIIUM

The qualitative and quantitative structure of a preparation of a carboxypeptidase A, not changed fabric received from and fabrics of benign and malignant tumors an endometrium and an ovaries is investigated. It is shown that development of neoplastic process is characterized by increase in quantity the diaminomonocarbonic of acids in fabric an endometrium and reduction of amount of these amino acids in tumoral tissues of an ovary. The share the monoaminodicarbonic of the amino acids making the contribution to a total charge of a proteinaceous molecule decreases in process of a progression of tumoral process ovaries and the endometrium increases in a molecule of a carboxypeptidase A a benign tumor. It is established that in process of a progression of tumoral process in tissue of an ovary the contents a hydroxyl – the containing amino acids potentially capable to participate in a catalysis increases. The amount of cysteine in the enzyme emitted from tumoral fabrics as an ovary and an endometrium is much lower, than in enzyme from not changed fabrics of these bodies and decreases in process of development of a tumoral progression. The received results testify that a carboxypeptidase A but not changed and tumoral tissues of an ovary and the endometrium considerably differs on qualitative and quantitative composition of amino acids.

Key words: carboxypeptidase A, content of amino acids, tumor, endometrium, ovarian.

5. Bradshaw R. S. The amino acid sequence of bovine carboxypeptidase A / L. H. Ericsson, K. A. Wals, H. Neurath // Proceeding of the National Academy Science USA. – 1969. – Vol. 63, № 4. – P. 1389-1394.

6. Esswein A. Construction and chemotherapeutic potential of carboxypeptidase A/monoclonal antibody conjugate / E. Hanseler, Y. Montejano, K.S. Vitols, F.M. Huennekens // Advances in Enzyme Regulation. – 1991. – Vol. 31. – P. 3-12.

7. Gaitonde M. A rapid and direct method for the quantitative determination of tryptophan in the intact protein/ Gaitonde M. K., Dovey T. // Biochemistry Journal. – 1970. – Vol. 11, № 7. – P. 907-911.

8. Goldstein S. Human mast cell carboxypeptidase. Purification and characterization / Goldstein S. M., Kaempfer C. E., Kealey J. T., Wintroub B. U. // Journal Clinical Investigate. – 1989. – Vol. 83, № 5. – P. 1630-1636.

9. Jaffray C. Specific pancreatic enzymes activate macrophages to produce tumor necrosis factor-alpha: role of nuclear factor kappa B and inhibitory kappa B proteins / C. Mendez, W. Denham, G. Carter, J. Norman // Journal Gastrointestinal Surgery. – 2000. – Vol. 4. – P. 370-377.

10. Michel A. Cleavage of atrial natriuretic peptide by a kidney membrane-bound carboxypeptidase A / J. Nortier, A. Humblet, C. Paradis, E. De Prez, M. Deschodt-Lanckman // Peptides. – 1998. – Vol. 19. – № 5. – P. 907-912.

11. Moore S. Chromatographi of amino acids on sulfonated polystyrene resins / Moore S., Stein W. H. // Journal Biological Chemistry. – 1953. – Vol. 192. – P. 663 – 681.

12. Moore S. On the determination of cystine as cysteic acid/ Moore S. // Journal Biological Chemistry. – 1963. – Vol. 238, № 1. – P. 235-237.

13. Pascual R. Purification and properties of five different forms of human procarboxypeptidases / F. J. Burgos, M. Salva, F. Soriano, E. Mendez, F.X. Aviles // European Journal Biochemistry. – 1989. – Vol. 179, № 3. – P. 609-616.

14. Skidgel R. Human carboxypeptidase M. Purification and characterization of a membranebound carboxypeptidase that cleaves peptide hormones/ Skidgel R. A., Davis R. M., Tan F. // Journal Biological Chemistry. – 1989. – Vol. 264, № 4. – P. 2236-2241.

15. Skigel R. A. Isolation and characterization of a basic carboxypeptidase from human seminal plasma/ Skigel R. A., Deddish P. A., Davis R. M. // Archives Biochemistry Biophysics. – 1988. – Vol. 267. – № 2. – P. 660-667.

Надійшла до друку 22.12.15