теріалів. Однак, унікальні характеристики наночастинок, які обумовлюють перспективність їх використання в промисловості, медицині і побуті, є потенційним джерелом небезпеки для живих організмів. Основні небезпеки від застосування наночастинок пов'язані із нанорозмірними особливостями, зокрема, великою площею поверхні і посиленою хімічною реактивністю, та недостатньо вивченим впливом на живі організми і екосистеми, що вимагає розробки нових підходів до оцінки їх впливу на організменному та клітинному рівнях.

Метою даного дослідження була оцінка впливу ВНЧ на морфологічні зміни в органах мишей, структурні зміни в клітинних мембранах, енергетичний обмін, вільнорадикальний гомеос-таз і генотоксичні пошкодження в нормальних та пухлинних клітинах, що можуть бути використані при створенні системи біомаркерів для оцінки біобезпеки застосування наноматеріалів.

В якості ВНЧ використано багатошарові вуглецеві нанотрубки (БшВНТ), які синтезували в Інституті хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України (дослідження in vivo) та фулерен С60 (дослідження in vitro)("Sigma", США). Дослідження проводили на білих нелінійних самцях мишей частині з яких інтраперитонеально перещеплювали асцитну карциному Ерліха (АКЕ). Тваринам вводили суспензію БшВНТ внутрішньоочеревинно у концентраціях 0,25-1,5 мг на тварину тривалість дії яких становила 3-48 год. Вміст фосфорвмісних макроергічних сполук, фосфоліпідів та біоенергетичний статус в клітинах оцінювали методом 31Р ЯМР-спектроскопії, рівень вільнорадикальних сполук визначали за допомогою флуоресцентних зондів, пошкодження ДНК реєстрували методом гель-електрофорезу ізольованих клітин.

Морфологічні дослідження внутрішніх органів мишей виявили залежні від дози і часу дії БшВНТ суттєві дистрофічні зміни в печінці та значні зміни гемодинаміки в нирках, а також розширення площі білої пульпи за рахунок перифолікулярної проліферації лімфоцитів в селезінці. Виявлено, що БшВНТ спричиняють пропорційне до часу експозиції зростання рівня реактивних форм кисню та азоту в сироватці крові тварин, гепатоцитах та клітинах АКЕ, однак рівень вільних радикалів у нормальних клітинах був більшим ніж у пухлинних. Зростання рівня вільних радикалів супроводжувалось генотоксичним ефектом в лімфоцитах периферичної крові. Показано, що вміст основних фосфоліпідів знижувався при дії низької концентрації БшВНТ або фулерену, проте, експозиція клітин АКЕ до високої дози ВНТ спричиняла зростання рівня фосфоліпідів. Висока доза БшВНТ та фулерену C_{60} спричиняли зниження проникності клітинних мембран, хоча низька доза БшВНТ мала протилежну дію. Дія ВНЧ викликала дозозалежні зміни енергетичного метаболізму та зниження ефективності утилізації кисню клітинами АКЕ. Менша доза БшВНТ спричиняла пригнічення енергетичного метаболізму, більша — його активацію у пухлинних клітинах. Фулерени спричиняли посилення енергетичного метаболізму, зниження рівня гіпоксії клітин, пригнічення синтезу складових фосфоліпідів у клітинах АКЕ. Зміни фізико-хімічних властивостей мембран проявлялись у активації синтезу компонентів мембран за високої дози БшВНТ і зниженні вмісту основних структурних фосфоліпідів за їх низької концентрації. Ці зміни супроводжувались посиленням апоптозу у клітинах АКЕ.

Отримані результати можуть бути використані при створенні системи маркерів для оцінки ризиків взаємодії ВНЧ з біологічними об'єктами.

Робота виконана за підтримки Державної цільової науково-технічної програми "Нанотехнології та наноматеріали", а також цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України "Фундаментальні проблеми наноструктурних систем, наноматеріалів, нанотехнологій".

ТЯЖЁЛЫЕ МЕТАЛЛЫ КАК ИНДУКТОРЫ АПОПТОЗА В ЭНТЕРОЦИТАХ КИШЕЧНИКА КРЫС

Потапов Е.А., Коваль М.Г.
Украинский НИИ медицины транспорта, г. Одесса

Актуальность темы. Одним из первых барьеров на пути проникновения ксенобиотиков в организм человека является эпителий тонкого кишечника. Апоптоз или запрограмированная смерть клетки, способствующая "естественному" физиологическому обновлению, играет важную роль в поддержании этого барьера в функционально активном состоянии. Как известно из литературы, различные экзо- и эндогенные факторы являются индукторами апоптоза, в частности и тяжелые металлы (ТМ). Поэтому, нами была поставлена задача моделирования индукции процесса апоптоза энтероцитов тонкого кишечника крыс. В опытах in vitro на переживающих отрезках кишечника оказалось возможным моделировать условия развития различных видов клеточной смерти при действии ионов ТМ. Наиболее простым способом оценки клеточной реакции явился подсчет числа и состава клеток дисквамированных в просвет кишки.

Материалы и методы. Было изучено влияние цинка, и кадмия in vitro на эпителий тонкого кишечника. Оптимальной моделью для данного эксперимента была выбрана методика изолированных переживающих фрагментов тонкого кишечника крыс. Суть эксперимента заключалась в быстром извлечении у крысы после декапитирования тонкого кишечника, разделении его на

фрагменты и перфузии раствором Рингера-Локка. В полость изолированного фрагмента кишечника вводили 1 мл выше указанного раствора с растворенным в нем хлоридом кадмия и сульфата цинка с концентрацией 0,05 мг/л, 0,1 мг/л, 0,5 мг/л и 1,0 мг/л (по металлу). В контроле вводился чистый раствор Рингера-Локка. На концы изолированных фрагментов накладывались лигатуры, после чего они помещались в раствор Рингера-Лока и выдерживались в термостате при 37 °С в течении 30 мин. После завершения экспозиции содержимое фрагментов извлекали, 0,2 мл его помещали в пробирку с 0,05 мл подкрашенного метиленовым синим изотонического раствора натрия хлорида. Растворы перемешивали и выдерживали при комнатной температуре 10 мин, а затем подсчитывали клетки эпителия кишечника в камере Горяева. Кроме этого, 0,2 мл содержимого выделенного фрагмента тонкого кишечника помещали в пробирку с 0,05 мл подкрашенного трипановым синим изотонического раствора натрия хлорида, для оценки в камере Горяева количества мёртвых клеток, попавших в просвет тонкого кишечника. Благодаря интенсивному, селективному окрашиванию мёртвых клеток вышеуказанным красителем, можно достаточно точно оценить их количество на стадиях апоптоза и некроза. Подсчёт клеток производился в 100 больших квадратах. Количество эпителиальных клеток оценивали по формуле: X=a*4000*1,25/1600. Полученное число показывало количество клеток в одном микролитре содержимого кишечника. Для пересчета на 1 л, это число умножали на 10^6.

Результаты и обсуждение. Анализируя полученные результаты, можно прийти к выводу, что и цинк и кадмий проявляли индуцирующее влияние на процесс апоптоза энтероцитов кишечника крыс. Так, уже при концентрации кадмия в пределах 0,1 мг/л отмечалось некоторое увеличение числа дисквамированных в просвет кишечника энтероцитов, $335,5*10^6$ клет/л по сравнению с контролем $195,2*10^6$ клет/л. В концентрациях 0,5 мг/л и 1,0 мг/л эти показатели составили 552,5*106 клет/л и 785,1*106 клет/л. Что касается цинка, то стоит отметить, что его индуктивная активность, на наш взгляд, несколько ниже чем у кадмия. Только на концентрациях 0,5 мг/л и 1,0 мг/л было отмечено увеличение числа дисквамированных клеток в пробах до $289,5*10^6$ клет/л и $405,3*10^6$ клет/л соответственно. По мере роста концентраций кадмия и цинка, увеличивался процент некротических клеток в просвете кишечника и достиг, при концентрации кадмия 1,0 мг/л, 72,3%. У цинка этот показатель составил 51,4%.

Заключение. Исследования показали, что индукция процесса апоптоза кадмием более выражена и имеет дозозависимый эффект. У цинка отмечена активация апоптоза большими дозами и подавление малыми. Рост концентрации исследованных металлов ведёт к увеличению доли некротических процессов.

ЗАСТОСУВАННЯ МАТЕМАТИЧНОЇ МОДЕЛІ ДЛЯ ОЦІНКИ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ПОТЕНЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА КРОВОТВОРНУ СИСТЕМУ

Бойко Р.В., Дупленко Ю.К., Білько Д.І., Білько Н.М.
Національний університет "Києво-Могилянська академія", Київ, Україна

Кровотворення — це самовідновна система, яка віддзеркалює всі патологічні процеси, що порушують гомеостаз. Регуляція цих процесів дуже активно досліджується вченими всього світу. Спроба описати процес кровотворення мовою математики за останні десятиліття здійснювалася неодноразово. Тим не менше, і по сьогоднішній день кровотворна система як яскравий приклад системи оновлення потребує осмислення і узагальнення результатів у вигляді математичних моделей.

Аналіз даних літератури і результатів наших попередніх досліджень приводять нас до думки про потребу конкретизувати уже наявні поняття і закономірності процесів, які відбуваються у кровотворній системі. Нами було зроблено спробу проаналізувати кровотворення в нормі та у випадку дії токсикантів як стаціонарний процес проліферації і диференціювання кровотворних клітин і, використовуючи закономірності тих чи інших його етапів, перетворити їх у математичні формули.

Механізм підтримки кровотворення в організмі забезпечує продукування 300 млн. клітин крові у хвилину, принаймні за п'ятьма напрямами диференціювання. При стабільному кровотворенні співвідношення між ними у пропорційному відношенні підтримується приблизно на одному і тому ж рівні. Разом з тим, при збурюючих впливах продукція одних чи інших клітин різко змінюється.

Основу запропонованої стохастичної моделі становитиме схема кровотворення, запропонована Чертковим Й. Л. та співавт., 1991, 2002, з урахуванням думки, що розділення мегакаріоцитопоезу і еритропоезу від стовбурової кровотворної клітини (СКК) йде, ймовірно через стадію біпотентних еритроїдно-тромбоцитарних попередників. Модель базується на твердженні про те, що кровотворення в організмі підтримують СКК, закладені в ембріогенезі у певній кількості джерел, які витрачаються із цих джерел послідовно. Принциповими у запропонованій моделі стаціонарного кровотворення є припущення про незмінність у часі середніх тривалостей генераційних циклів усіх типів клітин, ймовірностей диференціювання і самовідновлення, а також