

Міністерство освіти і науки України
Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ЛАВРИНЕНКО ВІКТОРІЯ ЄВГЕНІВНА

УДК 591.3:598.6:546.26

**БІОЛОГІЧНИЙ ВПЛИВ ВУГЛЕЦЕВИХ МАТЕРІАЛІВ РІЗНОЇ
ДИСПЕРСНОСТІ НА КУРЯЧІ ЕМБРІОНИ**

03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2017

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України
Чайковський Юрій Богданович
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України,
завідувач кафедри гістології та ембріології.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор,
Заслужений діяч науки і техніки України
Рибальченко Володимир Корнійович
Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України,
головний науковий співробітник НДС «Мембранології і цитології»;

доктор біологічних наук, професор
Волков Костянтин Степанович
Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,
завідувач кафедри гістології та ембріології.

Захист відбудеться « 22 » березня 2017 р. о 14⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, проспект Академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434.

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада Д 26.001.38

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58, зал №12.

Автореферат розісланий « 17 » лютого 2017 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38,
доктор біологічних наук

К.О. Дворщенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Зростаючий інтерес до застосування вуглецевих наноматеріалів у медицині не викликає сумнівів. Препарати на основі вуглецевих наноматеріалів широко використовуються для лікування пухлин, адресної доставки ліків та візуалізації певних структур у тканинах. На жаль, незважаючи на значну кількість, дослідження токсичності наноматеріалів не стандартизовані, через що важко встановлювати зв'язок між отриманими результатами та будовою, розмірністю різних матеріалів, їхніми біологічними ефектами. Крім того, тератогенний ефект вуглецевих наночасточок лишається практично недослідженим.

Загалом вважається, що активоване вугілля (AB) не здатне проникати у тканини організму і абсолютно інтактне, тому з давніх часів використовується в медицині [Derlet R.V., 1986]. Проте технологія приготування AB, котра передбачає вплив високих температур, може супроводжуватись утворенням дрібних часточок з великою проникною здатністю, зокрема — нанорозмірних [Bahri L.El., 2008].

Аналогічною є ситуація з терморозширеним графітом (ТРГ), що переважно використовується у промисловості і лише опосередковано – в медицині (матриця для синтезу нанотрубок) [Eatemadi A., 2014], адже для розширення просторів у кристалічній решітці природно-кристалічного графіту використовують хімічні сполуки і високу температуру [Cao L., 2014].

Більшість досліджень патологічних ефектів технічного вугілля (ТВ) (сажі) стосується потенційних ризиків для здоров'я при згоранні дизельного палива та фабричних емісій, де міститься велика кількість інших речовин [Hedberg E., 2002]. До того ж, практично невисвітленим на сьогоднішній день лишилось питання впливу сажі на різні системи організму, бо основну увагу дослідники зосереджують на легенях та шкірі. Значна частина авторів, що заперечують канцерогенну чи будь-яку іншу патогенну дію сажі на живі організми, спирається на фрагментарне сприйняття її властивостей: оскільки сажа майже повністю складається з карбону, вона ніяким чином не включається в метаболізм і після інгаляції з часом просто виводиться з організму за допомогою мукоциліарного транспорту. Вочевидь така інтерпретація біологічних ефектів сажі не зовсім коректна.

Все більшу увагу промисловості, пов'язаної з наноматеріалами, привертають розробки алмазних наночасточок (АНЧ). Вони наділені унікальними характеристиками – біосумісністю, низькою хімічною реактивністю, оптичною прозорістю, надзвичайною міцністю тощо. Сучасні публікації все частіше описують різноманітні дивовижні властивості і шляхи їх застосування: в якості біосенсорів, переносників ліків, засобів візуалізації певних структур чи іммобілізації білків [Barnard A.S., 2009; Shimkunas R.A. et al., 2009; Zhang W. et al., 2014; Guifa X. et al., 2014]. Розуміння базових принципів і особливостей впливу цих структур на живі організми, оцінка можливих ризиків їх використання є абсолютно необхідними для їх подальшого медичного і біологічного застосування. Тим не менш, наукових досліджень на цю тему в рази менше ніж тих, що описують все нові і нові потенційні сфери застосування АНЧ.

Незважаючи на наявність різноманітних досліджень біологічного впливу вуглецевих матеріалів, їх тератогенний ефект лишається практично недослідженим.

Використання різних типів вуглецевих наночасточок у медицині зараз перебуває на роздоріжжі між перевіркою їх біологічних властивостей і застосуванням для лікувальних та діагностичних програм. Прогрес у клінічних випробуваннях буде залежати від підсумків токсикологічних досліджень та результатів вивчення ефективності, що уможливить оптимальне співвідношення ризиків і користі використання цих структур людиною [Чекман І.С. та ін., 2009].

Усе вищесказане обумовило вибір теми та матеріалів дослідження, адже саме стандартизований підхід до оцінки впливу вугілля різної дисперсності уможливить встановлення взаємозв'язків між будовою та біологічними ефектами цих речовин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної теми кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Органи нервової, імунної та сечостатевої систем в умовах експериментального пошкодження» № д/р 0112U001413 (2011-2015 рр.).

Мета і завдання дослідження – визначення впливу вуглецевих матеріалів різної дисперсності на організм, що розвивається, та оцінка проникної здатності і тропності до тканин.

Досягнення мети передбачало вирішення наступних завдань:

1. Встановити вплив вуглецевих матеріалів різної дисперсності на розвиток курячих ембріонів на макроскопічному рівні.
2. Оцінити вплив вуглецевих матеріалів різної дисперсності на структурні компоненти зародків курей протягом усіх етапів ембріогенезу на клітинному та субклітинному рівнях.
3. З'ясувати спроможність та встановити шляхи переміщення досліджуваних матеріалів в живому організмі, їх тропність до різних тканин.
4. Встановити здатність вуглецевих матеріалів різної дисперсності проходити крізь стінки кровоносних судин, проникати в тканини і клітини.
5. Оцінити вірогідність тератогенних ефектів досліджуваних матеріалів.

Об'єкт дослідження — вплив вуглецевих матеріалів різної дисперсності на живі організми.

Предмет дослідження — біологічні ефекти вуглецевих матеріалів різної дисперсності щодо організмів, які розвиваються.

Методи дослідження: у роботі використовували макроскопічні, оглядові гістологічні, електронно-мікроскопічні методи та морфометрію з подальшим статистичним аналізом результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше морфологічно верифіковано біологічні ефекти вуглецевих часточок різної дисперсності щодо структурних компонентів організму на різних етапах ембріонального розвитку.

Одержано дані щодо шляхів поширення досліджуваних матеріалів в організмі та проникної здатності кожного матеріалу щодо тканин і клітин. Вперше продемонстровано здатність активованого вугілля до проникнення в тканини та розширено дані щодо здатності алмазних наночасточок проникати у внутрішньоклітинні структури.

Встановлено відсутність тропності вуглецевих наночастинок до певних органів чи структур.

Розширено розуміння механізмів патологічних процесів, спричинених карбоновими часточками в організмі. Вперше встановлено ушкоджуючу дію сажі щодо кровоносної системи зародка. Підтверджено і розширено дані щодо спричинення алмазними наночастинок оксидативного стресу в клітинах. Продемонстровано тяжкий тератогенний ефект ТРГ.

Практичне значення одержаних результатів. Продемонстровано необхідність дотримання заходів безпеки для довкілля та особистого захисту на виробництвах, пов'язаних з технічним вугіллям, алмазними наночастинок та терморозширеним графітом у зв'язку з їх здатністю проникати до кровоносного русла, мігрувати в організмі та викликати порушення структури і роботи органів.

Розширення інформаційних даних щодо перебігу ембріогенезу у птахів надає можливість їх використання в учбовому процесі для розробки посібників, підготовки лекційних та семінарських занять з гістології та біології розвитку. Одержані морфологічні підтвердження присутності нанорозмірних вуглецевих матеріалів в тканинах і клітинах зародків можна використовувати в якості критерію верифікації цих частинок на гістологічних препаратах.

Використання курячих ембріонів в дослідженні демонструє широкі можливості застосування цього об'єкта в якості тестової системи для оцінки патологічної дії різноманітних біологічних (віруси, бактерії) та абіогенних факторів на цілісний організм.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено аналіз профільної наукової літератури та обґрунтування методології проведення експерименту. Самостійно було здійснено збір макроскопічних та морфометричних даних, що характеризують ембріональний розвиток, та проведено їх статистичний аналіз. Автор брав участь у всіх етапах виготовлення препаратів для світлооптичного та ультраструктурного дослідження. Дисертантом було проведено дослідження та опис всіх одержаних препаратів. Самостійно здійснено аналіз одержаних даних, написані і проілюстровані всі розділи дисертації та її висновки.

Комплексне лабораторне забезпечення досліджень здійснено на кафедрі гістології та ембріології НМУ імені О.О. Богомольця. Консультування щодо виготовлення препаратів для світлової та трансмісійної мікроскопії здійснювали старші лаборанти Гребенщикова Н.О. та Вішневська Н.В. Професором Терещенко В.П. визначено актуальність наукового пошуку, мету й завдання роботи, розроблено методологію дослідження, професором Чайковським Ю.Б. проведено наукове консультування кожного етапу виконання дисертації. Всі дані, отримані у співавторстві, відображені у спільних публікаціях.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались та обговорювались на конференції молодих науковців Інституту сорбції та проблем ендоекології НАН України (Київ, 2009), IX науковій конференції студентів та молодих науковців в Україні (Київ, 2009), науково-практичній конференції «Youth NanoBioTech-2010, молодіжний форум з нанотехнологій» (Київ, 2010), науково-

практичній конференції «Актуальні питання сучасної патоморфології» (Київ, 2012), IX конгресі патологів України «Актуальні проблеми патології» (Луганськ, 2013).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 10 наукових праць, з яких 5 наукових статей у фахових виданнях, що відповідають вимогам МОН України, з яких 2 у наукових виданнях інших держав, що індексуються міжнародними наукометричними базами; а також одна стаття в збірнику наукових праць; одна стаття в періодичному (медичному) виданні; 3 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій та конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, методів досліджень, 3-х розділів результатів власних досліджень, розділу, присвяченому аналізу й узагальненню результатів, висновків та списку використаних джерел, який складається з 118 найменувань. Матеріали дисертаційної роботи викладені на 150 сторінках (з яких основна частина займає 139 сторінок, ілюстрована 8 таблицями, 18 рисунками, з них 6 діаграм, 55 мікрофотографіями та 75 електронограмами).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Для оцінки біологічних ефектів карбонових наночастинок на різні структури живих організмів в якості об'єктів впливу використовувались ембріони курей породи Хай-Лайн білий (бройлери). Застосування даної моделі надало нам можливість оцінювати реакції цілого організму і окремих структур в його складі на різних стадіях ембріологічного розвитку на введені матеріали.

В експерименті було задіяно 188 яєць, розділених на інтактну групу (ІГ), контрольну групу (КГ) і 4 експериментальні групи (ЕГ). ІГ включала 20 яєць, що інкубувались без будь-якого зовнішнього втручання. КГ включала 46 яєць, яким вводили декстран без суспензії досліджуваних матеріалів. У яйця з 4х ЕГ вводили досліджувані речовини: ЕГ-АВ (41 яйце) – активоване вугілля моделі ZL-302, що характеризувалось щільністю $0,42 \text{ г/см}^3$, діаметром пор 30 – 70 мкм та вмістом золи менше 4% із середнім розміром часточок 14 нм та розміром агрегатів 74 нм; ЕГ-ТВ (27 яєць) – технічне вугілля (сажу), розміри часточок якого складали в середньому 29 нм, а розміри агрегатів досягали 0,4 мкм; ЕГ-АНЧ (34 яйця) – алмазні наночастички з середнім розміром часточок 7,4 нм і розміром агрегатів 30 нм; ЕГ-ТРГ (20 яєць) – терморозширений графіт з розміром часточок 44 нм і розміром агрегатів до 2,03 мкм.

Досліджувані порошкові матеріали вводили в жовтковий мішок зародка на третю добу інкубації, що забезпечило потрапляння матеріалів в організм разом з жовтком. Нами було виготовлено суспензію досліджуваних матеріалів на біосумісному Декстрані 40 (Реополіглюкіні-Новофарм), що запобігав їх агрегації. Доза досліджуваних матеріалів, що вводилась в кожне яйце, складала 0,31 мг. У перерахунку на 1 кг ваги маса введених речовин складала 14 мг/кг.

Карбонові наночастички було введено в об'ємі 0,2 мл декстрану на один жовток. Концентрація часточок у суспензії складала 1,55г/л. Стерилізація матеріалу здійснювалась за температури 120°C впродовж 60 хвилин.

Алгоритм введення матеріалу у жовтковий мішок проводили за методом Кокса для розмноження рикетсій [Сох Н.Р., 1938].

Забій проводився для різних груп на третій, шостий, чотирнадцятий і двадцятий дні інкубації. На ранніх стадіях ембріогенезу забирали весь організм, на пізніх – окремі органи і тканини.

Під час забою курячих зародків проводилась макроскопічна оцінка їх стану, розмірів та розвитку судинної оболонки. Ми розділяли зародки на живі та мертві. На ранніх стадіях цей показник визначали за наявністю серцебиття, на пізніх – за рухомістю ембріона. Проводилось вимірювання лінійних показників зародків від маківки голови до кігтя найдовшого пальця ноги. Отримані дані порівнювались із аналогічними показниками (із врахуванням строку інкубації), наведеними у таблицях нормального розвитку курячих зародків, складених В. Гамбургером і Г. Гамільтоном, доповнених даними М. Рогозіної. Таким чином визначалась відповідність фактичних макропараметрів курячих ембріонів контрольної та експериментальних груп стандартним показникам, і всі зародки розподілялись на великі, середні та малі. При забої оцінювався також стан судинної сітки оболонки жовткового мішка (ЖМ) ембріонів, відмічались її розвиток, гіперемія чи запустіння судин.

Варто відмітити, що за результатами проведених досліджень характеристики зародків в ІГ та КГ (із задіянням декстрану) не відрізнялись. Біосумісність декстрану та оптимальний підбір способу введення матеріалів (оскільки такий тип інтродукції не викликає травмування тканин) був доведений також гістологічними дослідженнями. Тому в роботі ми вважали доцільним порівнювати показники експериментальних груп із показниками контрольної групи.

Матеріал для морфологічних досліджень фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, виготовляли парафінові блоки. З парафінових блоків на санковому мікротомі виготовляли зрізи завтовшки 4-6 мкм, які забарвлювали гематоксилином Майєра і еозином Y (тетрабромфлуоресцеїном). Зрізи переглядали при збільшеннях 10×10, 10×40, 10×60 і 10×100 на світловому мікроскопі «Olympus BH-2» з цифровою камерою «Olympus DP10» із програмним забезпеченням «Olympus DP-Soft».

Відібраний для електронномікроскопічного аналізу матеріал при потребі подрібнювали до 1 мм³ та фіксували впродовж 1–4 годин в розчині, який містив 1,6% або 2,5% глутаральдегід і 2% параформ на 0,1 М какодилатному буфері (рН 7,4), промивали у тому ж буфері двічі впродовж 5-10 хвилин, дофіксували в 1-2% розчині чотириокису осмію на 0,1 М какодилатному буфері рН 7,4 дві години, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та окисові пропілену або ацетоні і заливали в епон. На ультрамікротомі УМТП – 6М (Україна) виготовляли напівтонкі зрізи (1-1,5 мкм) та ультратонкі зрізи (50-60 нм). Останні контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю за Е. Рейнольдсом. Препарати вивчали та фотографували при збільшеннях х4 800, х7 200, х10 400 під електронним мікроскопом JEM 100 CX (JEON, Японія) за прискорюючої напруги 50-60 кВ на базі Інституту проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України.

Для статистичної обробки одержаних в експерименті макроскопічних показників використовували пакет статистичного аналізу комп'ютерної програми

Microsoft Excel (версія 6.0). Показник вірогідності розраховували за t-тестом Стюдента. Було також виміряно та статистично оброблено дані щодо площі епітелію проксимальних і дистальних каналців у нирках зародків з контрольної та експериментальних груп. Вимірювання проводились за допомогою комп'ютерної програми ImageJ. За допомогою пакету Origin було встановлено, що розподіл по обох показниках у всіх трьох групах був ненормальним (не відповідав кривій Гаусса). Тому в якості методу статистичної перевірки гіпотез ми обрали U-критерій Манна-Уїтні. Твердження про наявність істотних розбіжностей приймали при вірогідності помилки $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У *Розділах 3, 4, 5* дисертації наведено результати макроскопічних, світлооптичних та електронномікроскопічних досліджень впливу вуглецевих матеріалів різної дисперсності: активованого вугілля, технічного вугілля (сажі), алмазних наночасточок та терморозширеного графіту.

Обговорюючи стан зародків з експериментальних груп (ЕГ), необхідно врахувати той факт, що відомі на сьогоднішній день дані щодо впливів, які чинять наноматеріали, знаходяться виключно у вимірі досліджень на повністю сформованих дорослих організмах. Унікальною рисою даного дослідження є те, що вперше вуглецеві матеріали різної дисперсності були застосовані в експерименті з використанням ембріонів в якості об'єктів досліджень. Тож, інформаційні дані сучасної світової літератури щодо стандартних ефектів впливу нанорозмірних матеріалів на живий організм, отримані при дослідженнях сформованих (дорослих) істот, вочевидь не можна повністю екстраполювати на їх ембріональний розвиток.

Ще одним аспектом даного дослідження є верифікація наявності вуглецевих наночасточок в тканинах і клітинах за наслідками їх дії. Нановимірні розміри досліджуваних нами матеріалів дозволяють виявляти при світлооптичному дослідженні лише агрегати часточок, а електронна мікроскопія дозволяє припускати локалізацію часточок в клітинах, проте достовірно констатувати їх наявність можливо саме за наслідками їх дії, на що ми і акцентуємо нашу увагу.

Біологічний вплив активованого вугілля. Загалом констатуємо, що при світломікроскопічному та ультраструктурному дослідженні тканин зародків з ЕГ із АВ ознак порушень процесів росту і формування структур організму курячих ембріонів виявлено не було. Гістологічна будова ембріонів з групи, на яку діяли АВ, відповідала своєму терміну інкубації та не мала суттєвих відмінностей у порівнянні із курчатами КГ. Порівняння площі епітелію каналців нирок з даної та КГ не показало статистично достовірної різниці, що свідчить про відсутність патологічних процесів у цьому органі (таблиці 1, 2). Документована у нашому експерименті наявність часточок АВ в печінці ніяким чином не вплинула на її функціонування.

За даними електронної мікроскопії введення АВ спричинювало мінімальну реакцію відповіді досліджуваних організмів. Ця реакція проявлялась на ранніх етапах ембріогенезу через короткий період часу після введення суспензії АВ в ЖМ. Через три дні в окремих зонах ектодерми зародка спостерігались ознаки помірного набряку: незначне розширення міжклітинних проміжків, збільшення просвітів

каналців ендоплазматичної сітки у клітинах. Імовірно, зовнішнє втручання в замкнену і ізольовану систему яйця має свої незначні негативні наслідки для його структур, що підтверджено дослідженням макроскопічних характеристик ембріонів з контрольної групи.

Таблиця 1

Порівняльний аналіз площі епітелію проксимальних каналців нирки в контрольній та експериментальній групах

Групи	Показники					
	Медіана, мкм ²	Максимальне значення, мкм ²	Мінімальне значення, мкм ²	У-критерій Манна-Уїтні	Критичне значення U-критерію Манна-Уїтні	Наявність достовірної різниці між групами
КГ	11221,9	17430,4	5399,5			
ЕГ із введеним АВ	13788,3	21439,6	6641,4	1300,5	1054	Відсутня
ЕГ із введеними АНЧ	28153,2	72229,9	9864,4	92	1010	Наявна*
ЕГ із введеним ТВ	32380,2	70551,9	15655,0	5	1010	Наявна*

* – $p < 0,05$ відносно значень у контрольній групі

Таблиця 2

Порівняльний аналіз площі епітелію дистальних каналців нирки в контрольній та експериментальних групах

Групи	Показники					
	Медіана, мкм ²	Максимальне значення, мкм ²	Мінімальне значення, мкм ²	У-критерій Манна-Уїтні	Критичне значення U-критерію Манна-Уїтні	Наявність достовірної різниці між групами
КГ	3543,7	6445,2	1291,1			
ЕГ із введеним АВ	3965,0	7480,2	1588,0	668,5	628	Відсутня
ЕГ із введеними АНЧ	11692,5	27575,4	3355,4	75	628	Наявна*
ЕГ із введеним ТВ	8068,5	13313,5	2988,4	85	645	Наявна*

* – $p < 0,05$ відносно значень у контрольній групі

Щодо показників розміру зародків у даній експериментальній групі, частка крупних зародків перевищувала не лише показник інших експериментальних груп, але і контрольної групи (рис. 1). На нашу думку, це пояснюється тим, що не можна виключити певний позитивний ефект АВ на розвиток зародку, оскільки воно має властивість опосередковано посилювати метаболізм та виведення ендотоксинів власними (природними) органами детоксикації [Подольян Л., 1997], це може бути корисним на пізніших етапах ембріонального розвитку, коли ці органи сформовані. До того ж відомо, що на пізніх стадіях розвитку курячий ембріон починає

інтенсивно заковтувати білок з амніотичної рідини, що призводить до посилення метаболізму білків, і, відповідно, збільшення імовірності утворення ендотоксинів [Smith T.W., 2008].

При гістологічному та ультраструктурному дослідженні препаратів ембріонів з даної ЕГ констатували наявність часточок вугілля в різних органах і тканинах, зокрема стінках кровоносних судин, крові, шкірі, жировій клітковині, м'язах тощо. Виявлення його в оболонках і тканинах зародків свідчить на користь високої здатності до проникнення АВ в організм. Виявлення часточок АВ в еритроцитах та стінках судин свідчить на користь міграції цих чужорідних часточок кровоносним руслом, що забезпечує широке їх розповсюдження по організму.

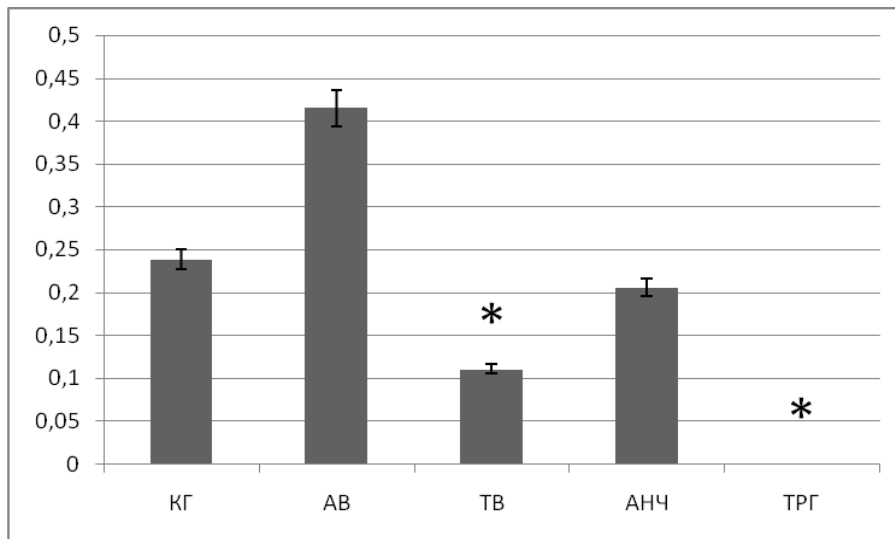


Рис. 1. Частка зародків великого розміру у контрольній та експериментальних групах (всі етапи ембріогенезу).

* – $p < 0,05$ відносно значень у контрольній групі.

При цьому дані електронної мікроскопії показують, що еритроцити були сформованими: не мали внутрішньоклітинних органел, їх ядра були темними через компактизацію хроматину. Відсутність будь-якої реакції ендотелію та інших компонентів судинної стінки, як і формених елементів крові, на контакт з АВ доводить безперешкодне проникнення останнього у структури, що розвиваються. При цьому тропності досліджуваного матеріалу до певних структур, тканин чи клітин виявлено не було. Зазначимо, що проявів запалення чи інших патологічних процесів або реакцій у місцях проникнення ентеросорбенту в тканини також не спостерігалось.

АВ дуже часто використовують в ентеросорбції для зв'язування та утримання на своїй поверхні токсигенних компонентів кишкового вмісту з подальшим їх видаленням з організму через ШКТ [Лоскутов А.И., 1991]. У такому випадку воно потрапляє до організму при проковтуванні і діє лише в кишечнику. При цьому його сорбційні властивості обумовлюються площею поверхні, що контактує з хімутом. У нашому ж експерименті АВ потрапляло до ШКТ «зсередини» – через судинне русло та завдяки дифузії в сполучній тканині та епітелії, практично не виходило в просвіт

кишки, а сорбцію могло здійснювати лише на останніх днях ембріогенезу, коли вже сформований зародок починав заковтувати білок і перетравлювати його. Нами не було виявлено в літературі аналогічних досліджень впливу АВ не лише на організм зародка, але і на дорослий організм, тож при оцінці його дії на курячі зародки не було можливості порівнювати наші результати з результатами досліджень інших вчених.

Біологічний вплив технічного вугілля. За даними опрацьованої нами літератури однією з важливих характеристик сажі (ТВ), що посилює її вплив на живі організми, є нерозчинність у водному середовищі [Monteiller C. et al., 2007], адже нерозчинні часточки зазвичай мають пролонговані ефекти, в той час як розчинні з більшою імовірністю досить швидко виведуться з організму. Основна частина авторів досліджували патологічну дію сажі на легені при вдиханні та шкіру при прямому контакті. [Noël A., Xiao R., Perveen Z., 2016]. Ми ж звертали увагу на різні структури організму, що розвивається.

ТВ повільно проходило з жовтка до тканин зародка. На шосту добу інкубації було виявлено вогнищеве просякання сажею цитолемою клітин ЖМ, що надавало останній специфічного сіро-чорного кольору. На ранніх етапах ембріогенезу органи зародка ще не зазнавали дії ТВ. Проте в стінці самого ЖМ відчутного вражаючого впливу зазнавали судини – спостерігалось порушення їх цілісності та внутрішньосудинна агрегація формених елементів крові.

За нашими спостереженнями протягом всього періоду ембріогенезу пошкоджуюча дія ТВ позначалась саме на структурах кровоносної системи і крові: кількість зародків з патологією судинної оболонки ЖМ достовірно відрізнялась між КГ та ЕГ (рис. 2). Вже з ранніх етапів ембріогенезу у зародків було ушкоджено кровоносні судини провізорних органів, в них спостерігалась гіперемія. Порушувались процеси кровотворення в печінці - агрегація еритроцитів під впливом ТВ призводила до появи в синусоїдах печінки осередків з еритроцитарними комплексами та, відповідно, сепарацією плазми, що проявлялось зонами запустіння синусоїдів.

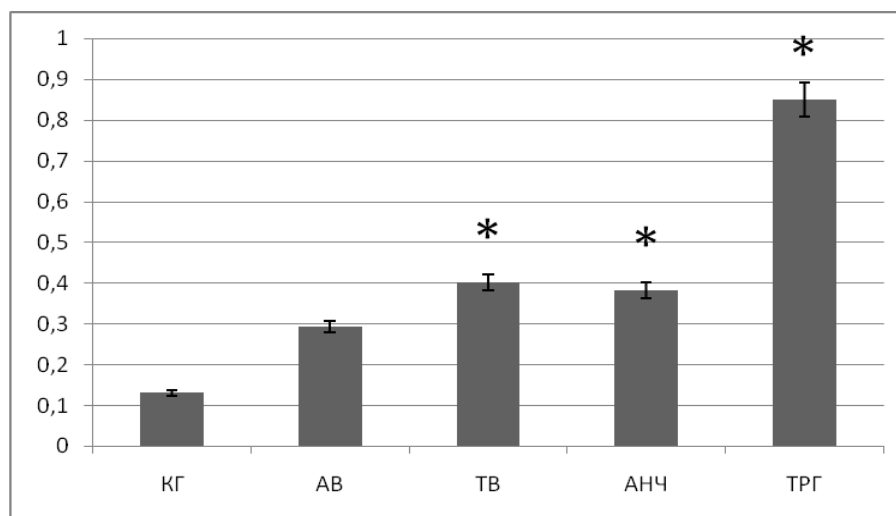


Рис. 2. Частка зародків з патологічним станом судин стінки жовткового мішка у контрольній та експериментальних групах (всі етапи ембріогенезу).

* – $p < 0,05$ відносно значень у контрольній групі.

На подальших етапах ембріогенезу порушення кровообігу призводило до гіпоксії і спричинених нею патологічних процесів в досліджуваних органах. Цитоплазма епітеліоцитів нирки була зернистою, еозинофільною, місцями не визначались чіткі контури клітин, що свідчило про наявність білкової дистрофії в них. Базальні і апікальні набряки в кінцевому рахунку спричинювали відлущення ділянок епітеліоцитів, заповнення ними просвітів каналців. Про патологічну дію сажі щодо нирок зародків свідчать і дані морфометрії (таблиці 1, 2). Паренхіма печінки також була порушена. Особливих патологічних змін зазнали судини в цьому органі. Вогнищево в кровоносних судинах (найвиразніше у центральних венах) виявлялись скупчення агрегованих еритроцитів з відмежуванням їх від плазми, еритроцити були гемолізованими, набухлими, з блідо пофарбованими або відсутніми ядрами.

На кінцевих етапах ембріогенезу вираженим ставав також набряк інтерстицію органів зародків. Порушення проникності стінок судин та інфільтрація лейкоцитами вказувала на розвиток запалення у їх стромі. В печінці зародків цієї ЕГ на завершальному етапі ембріогенезу також розвивалось запалення, яке доповнювало дистрофічні й деструктивні процеси, що спостерігались раніше.

Дослідження багатьох вчених вказують на посилення запальних процесів при дії ТВ на різноманітні органи і структури. Зокрема, як у людини [Diaz-Sanchez D., 1997], так і у тварин [Steerenberg P. A. et al., 2003; Van Zijverden M. et al., 2001] інгаляція чи інтраназальне введення різноманітних часточок аерозолів (мазуту, сажі, дизельних відходів) в поєднанні з антигеном здатні підвищувати рівень антигенспецифічного IgE.

Ряд досліджень акцентує увагу на імунній природі запальних та інших патологічних процесів, що супроводжують взаємодію часточок сажі з живим організмом чи його клітинами.

Проникна здатність ТВ видається нам досить обмеженою, оскільки до останніх етапів ембріогенезу значна частина її часточок виявлялась в стінці ЖМ, проникнення в інші тканини практично не спостерігалось. Подібні дані нами було отримало і з літератури – при гістологічному вивченні легень після впливу інтраназально введеного подразнюючого агента було виявлено відкладення сажі у просвіті повітропровідних шляхів та всередині альвеолярних макрофагів, що не супроводжувалось її розповсюдженням довкола [Sibilleet Y. et al., 1990; Bogdan C. et al., 1993].

При дослідженні легень зародків з даної ЕГ ми одержали подібні дані – як і в інших органах, в легенях часточки сажі зосереджувались на поверхні епітелію бронхів.

За допомогою електронної мікроскопії нами було показано наявність на поверхні та в цитоплазмі еритроцитів матеріалу високої електронної щільності, що найбільш імовірно є ТВ. При дослідженні тканин органів зародків на більш пізніх етапах ембріогенезу також було виявлено матеріал високої електронної щільності. Варто відзначити, що він локалізувався на поверхні епітелію. При цьому в кишці цитоплазма епітеліоцитів була набряклою, у міжклітинних просторах спостерігались еритроцити та лімфоцити, що свідчило про penetрацію формених елементів крові

крізь стінки судин інтерстицію та підтверджувало дані літератури про імунні процеси в органах, в які потрапляє ТВ. В нирках матеріал високої електронної щільності локалізувався в зоні мікворосинок епітеліоцитів (імовірно, що часточки ТВ, що потрапили в кровотік, було відфільтровано і вони осіли на стінці проксимальних каналців при реабсорбції).

Припускаємо, що в силу крупніших розмірів та вищої здатності до агрегації часточок сажі їх проникність в клітини була ускладнена, більша частина з них затрималась в зовнішній оболонці на весь строк інкубації.

Нами вперше було показано специфічність впливу ТВ на кровоносне русло та формені елементи крові. Оскільки сажу було введено в жовток, частина її часточок пройшла крізь стінку ЖМ та потрапила в численні судини, що забезпечують всмоктування компонентів жовтка та транспортування їх по організму. Осівши на поверхні еритроцитів, сажа попрямувала до органів з найкращим кровопостачанням, де зумовила розлади кровообігу і мікроциркуляції інтерстицію, які, в свою чергу, призвели до альтераційних процесів, дистрофічних змін епітелію і, в кінцевому рахунку – до порушення функціонування цих органів. Дані нашого дослідження та дані літератури [Zhang H. et al., 2012] вказують на більшу вразливість ранніх етапів ембріогенезу до негативних впливів загалом і впливу гіпоксії, зокрема. Друга половина строку ембріогенезу виявляє значно кращі компенсаторні механізми щодо гіпоксії та інших негативних впливів.

Біологічний вплив алмазних наночасточок. На противагу до ТВ часточки наноалмазів швидко проходили позазародкові оболонки – світлооптичне дослідження не виявляло їх ушкоджень і накопичення в них АНЧ. Лише ультраструктурне дослідження показувало наявність набряків в їх цитоплазмі і, що важливо, нуклеоплазмі. При цьому плазмалема руйнувалась, а нуклеолема частково лишалась неушкодженою. Крім того, в судинах зародкової оболонки було вражено еритроцити – їх цитоплазма була вакуолізованою, клітини ендотелію та прилеглі клітини зародка були набряклими.

Дослідження біологічної дії АНЧ на клітинному рівні показали відсутність цитотоксичного ефекту цього матеріалу щодо клітин дорослого організму. Було показано, що вони нетоксичні для ряду клітин [Chao J.I. et al., 2007] та є більш біосумісними, ніж сажа, багатостінні чи одностінні карбонові нанотрубки. Згідно ж з нашими даними АНЧ мають виражений цитотоксичний ефект.

Вони швидко проникли до органів зародка – на середніх строках інкубування в нирках та печінці зародків вже розгорнувся процес запалення, про що свідчила інфільтрація лейкоцитами. Просвіти каналців нирок були заповнені білковими масами і злущеними еритроцитами. Морфометрична оцінка площі епітелію прямих каналців нирок показала достовірне їх збільшення не лише щодо КГ, а і щодо ЕГ з введенням ТВ, що пояснюється базальними і апікальними набряками епітеліоцитів та свідчить про потужність патологічного впливу АНЧ на цей орган (таблиці 1, 2, 3).

Цілісність печінкових балок була порушена, а гепатоцити мали прояви дистрофії, на пізніх строках інкубації було виявлено невеликі осередки тканинного детриту.

В печінці окрім процесів альтерації ми спостерігали і заповнені жовчю розширені жовчні капіляри, і наявність затьоків жовчі у міжтрабекулярних просторах, що слугувало додатковим потужним ушкоджуючим чинником. Імовірно припустити, що значне ураження печінки було зумовлене підвищенням концентрації АНЧ у гепатоцитах при виконанні останніми дезінтоксикаційної функції та, можливо, виведенні наноалмазів з організму із жовчю.

Таблиця 3

Порівняльний аналіз площі епітелію дистальних каналців нирки в групі із введеними алмазними наночасточками і введеним технічним вугіллям

Групи	Показники					
	Медіана, мкм ²	Максимальне значення, мкм ²	Мінімальне значення, мкм ²	U-критерій Манна-Уїтні	Критичне значення U-критерію Манна-Уїтні	Наявність достовірної різниці між групами
ЕГ із введеними АНЧ	11692,5	27575,4	3355,4	500	645	Наявна*
ЕГ із введеним ТВ	8068,5	13313,5	2988,4			

* – $p < 0,05$ відносно значень у контрольній групі

Одна з небагатьох робіт, присвячених саме біорозподілу і шляхам виведення АНЧ з організму [Zhang X. et al., 2010], підтверджує одержані нами дані щодо враження печінки, при цьому їх майже не було виявлено в сечі, що свідчить про неспроможність нирок вивести їх з організму.

Наше дослідження показує, що, в кінцевому рахунку, альтераційні процеси, спричинені дією АНЧ, призводили до некробіозу і некрозу вражених органів.

Ультраструктурне дослідження показало пошкодження не лише одно-, але і двомембранних органел – вже згадувані нами ядра клітин стінки ЖМ не були єдиним проявом глибокого ураження клітин. В мітохондріях клітин ушкоджених органів ми спостерігали набряк, про що свідчили вакуолізація їх матриксу з осередками запусінь та практично зруйновані кристи (їхні залишки помітні були лише біля поверхні внутрішньої мембрани).

Ураження мітохондрій дозволяє нам припустити оксидативний стрес, спричинений контактом організму з АНЧ, адже саме в мітохондріях знаходяться ферменти, відповідальні за утворення і нейтралізацію активних форм кисню, тож при порушенні їх структури і, відповідно, функціонування, в клітині не можуть адекватно протікати процеси окиснення з утворенням енергії, яка потрібна для підтримання інших метаболічних процесів.

Патологічним змінам піддавались і ядра – хоча на ранніх етапах ембріогенезу нуклеолема не проявляла ознак ушкодження, всередині ядер спостерігались ознаки набряку, згодом у їх двошарових мембранах можна було спостерігати розширені перинуклеарні простори, у самих ядрах з'являлись глибоки гетерохроматину –

показник послаблення синтетичної активності клітин зародка; відмічено дисперсію ядерць.

Вивчення нами профільної літератури показало, що більш ранні дослідження вказували на те, що стан мембран мітохондрій і низький рівень активних форм кисню дозволяли припустити, що вже після потрапляння в клітину АНЧ лишаються нереактивними [Barnard A.S., 2009].

Останні ж дослідження [Mutysh J. et al., 2014] підтверджують одержані нами результати – біохімічно було підтверджено, що завдяки дуже високій проникній здатності АНЧ вражають ядро, інгібуючи проліферацію, а також провокують оксидативний стрес.

До того ж дослідження на стовбурових клітинах зародка миші [Xing Y. et al., 2011] показали, що АНЧ активували білки, відповідальні за репарацію ДНК, що дозволяє припустити їх шкідливий вплив на генетичний апарат клітини, процеси її диференціації і навіть здатність запускати в ній апоптоз.

Базуючись на свідченнях опрацьованої нами літератури та даних нашого експерименту, можна припустити, що АНЧ проявили таку високу токсичність, оскільки швидко проникали в глибину тканин і клітин, порушуючи їх структуру, вражаючи як одно- так і двомембранні органели. Руйнування мітохондрій призводило до оксидативного стресу, порушувалось функціонування ядра, виникали запальні процеси, що, в кінцевому рахунку, призводило до некрозу.

Біологічний вплив терморозширеного графіту. Оцінка біосумісності ТРГ видається нам очевидною – ще на стадії опису макроскопічних параметрів ембріогенезу ми виявили в цій ЕГ різко вищий не лише стосовно КГ, але і стосовно інших експериментальних груп рівень смертності, патології кровоносних судин стінки ЖМ та зменшення розмірів зародків (рис. 3, 4). Власне, введення цього досліджуваного матеріалу призвело до швидкої загибелі більшості зародків з цієї ЕГ ще на ранніх етапах ембріогенезу. Його надходження до організму ембріонів мало найтяжчі наслідки серед усіх оцінюваних нами речовин.

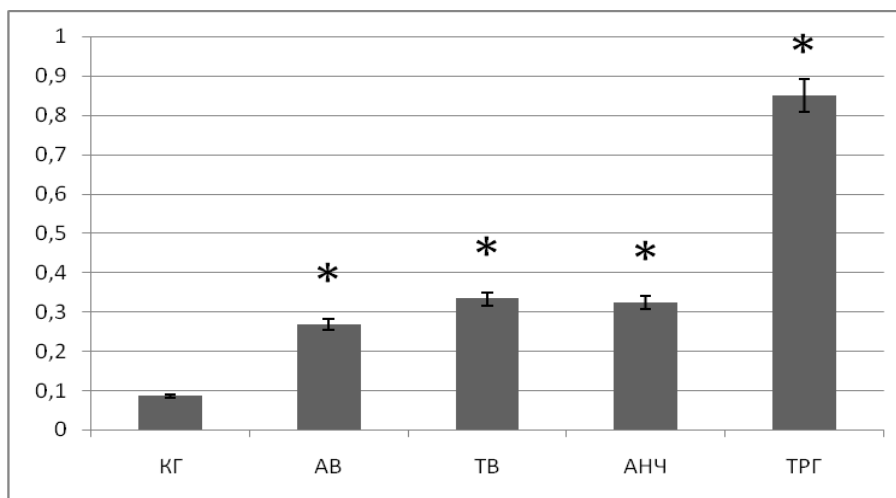


Рис. 3. Частка мертвих зародків у контрольній та експериментальних групах (всі етапи ембріогенезу).

* – $p < 0,05$ відносно значень у контрольній групі.

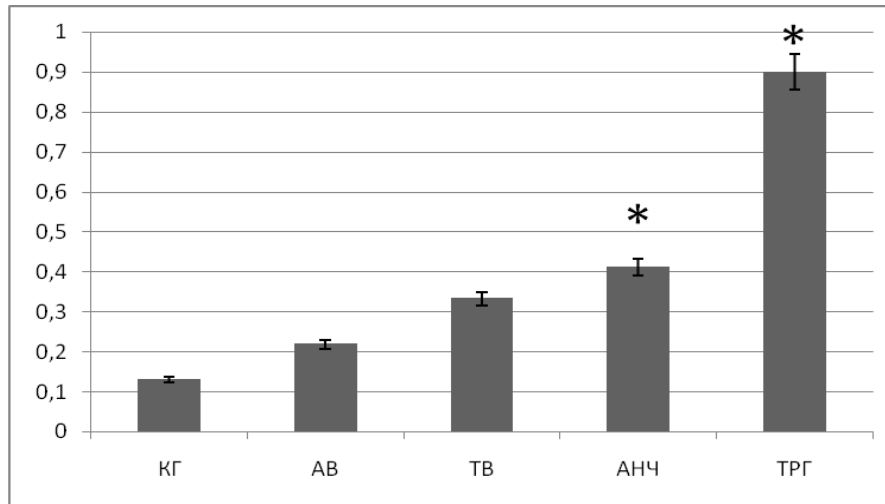


Рис. 4. Частка зародків маленького розміру у контрольній та експериментальних групах (всі етапи ембріогенезу). * – $p < 0,05$ відносно значень у контрольній групі.

При гістологічному дослідженні оболонок та тіла зародків автор показала, що уже через незначний час після введення терморозширеного графіту розпочиналися процеси некрозу, про що свідчили пікноз і рексис ядер, мутна цитоплазма, нечіткі межі та деформація клітин. Вже на ранніх етапах ембріогенезу вогнищево тканини перетворювались на безструктурну масу детриту. На пізніших стадіях у внутрішніх органах зародків, які вдалося ідентифікувати (печінка, нирки), також спостерігались порушення архітекtonіки через значні некротичні зміни паренхіматозних структур, набряки інтерстицію, скупчення поліморфних клітин інфільтрату зі значною домішкою імунокомпетентних клітин.

Ультраструктурні дослідження підтвердили дані макроскопічних та світлооптичних. Скоро після введення в ЖМ нами було виявлено значну кількість часточок ТРГ в клітинах позазародкових оболонок, їх наявність супроводжувалась ушкодженням клітинних компонентів: плазмолема деяких клітин була локально зруйнована, внутрішньоклітинний вміст виходив назовні, межі клітин були нечіткими; цитоплазма піддавалась вакуолізації та мала осередки запусіння – ознаки набряку. Нам видається цілком імовірним, що часточки ТРГ завдавали значного механічного ушкодження клітинам позазародкових оболонок та ектодерми зародка, призводячи до некрозу.

Важко говорити про здатність часточок ТРГ до міграції по організму, оскільки вже на стадії проникнення їх з жовтка в прилеглі тканини вони наносили значну шкоду, внаслідок чого ці тканини переставали функціонувати. Транспортування цих часточок з кров'ю також вбачається нам ускладненим, оскільки ми спостерігали запусіння в основній масі судин стінки ЖМ вже на ранніх етапах ембріогенезу, що свідчило про порушення кровообігу. Наявність спустошених жовткових гранул з часточками ТРГ в клітинах стінки ЖМ свідчить про те, що цей матеріал поглинався клітинами разом з жовтком, після чого порушував їхній нормальний обмін та функціонування клітин в цілому.

В літературі ми не зустрічали результатів оцінки біологічних ефектів ТРГ на цілісний організм чи його складові, незважаючи на те, що цей матеріал виробляється у значних кількостях у зв'язку з його вогнетривкими характеристиками [Шипко М.Л. та ін., 2004]. Згідно з результатами нашого дослідження очевидною є висока цитотоксичність цього матеріалу. Імовірно, це пов'язано з тим, що саме «розширення» звичайного графіту пов'язане зі збільшенням площі його поверхні, що підвищує шкідливий вплив матеріалу на клітину і організм в цілому.

Загалом варто підсумувати, що за обраного нами методу введення досліджуваних матеріалів всі часточки виявляли здатність до проникнення в організм курячого ембріона та міграції в ньому (рис. 5).

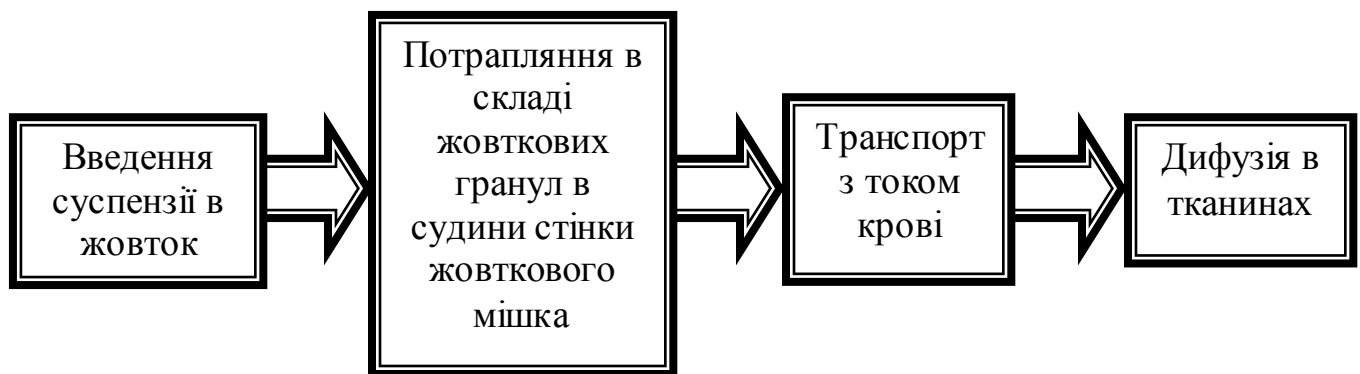


Рис. 5. Шляхи потрапляння вуглецевих матеріалів до організму та переміщення в ньому.

Транспортування досліджуваних матеріалів з током крові забезпечило їх потрапляння до всіх досліджених органів. Проте їх здатність до подальшого проникнення в тканини була різною для різних типів часточок, обернено-пропорційною до їх розмірів (чим менші розміри – тим вища проникна здатність). Розміри часточок сажі (29 нм – 0,4 мкм), що слабо проникала в тканини, є крупнішими за алмазні наночасточки (7,4 нм – 30 нм) та активоване вугілля (14 нм – 74 нм), які виявили добру здатність до проникнення в тканини зародка; дифузія часточок ТРГ (44 нм – 2,03 мкм в діаметрі) в тканини супроводжувалась механічним порушенням їх структури. Імовірно, підвищена схильність цих вуглецевих часточок до агрегації призвела до утворення крупних агломератів, що ушкодили оточуючі тканини.

ВИСНОВКИ

Вирішена актуальна наукова задача, що полягає у визначенні впливу вуглецевих матеріалів різної дисперсності на організм, що розвивається, з оцінкою проникної здатності і тропності до тканин. На основі даних власних експериментальних досліджень виявлено особливості розповсюдження різних досліджуваних матеріалів в організмі зародка та специфіку ушкоджуючої дії кожного з них. Одержані дані можуть бути в подальшому задіяні в розробці концепції з оцінки безпечності вуглецевих матеріалів різної дисперсності.

1. Технічне вугілля (сажа), алмазні наночасточки та терморозширений графіт негативно впливали на перебіг ембріогенезу: підвищувався рівень смертності (з 8,7 % в контрольній групі до 85 % у групі із введеним терморозширеним графітом), при цьому близькі між собою значення даного показника спостерігалися для експериментальних груп із введенням сажі і алмазних наночасточок (33,3 % та 32,4 % відповідно); порушувався кровообіг у стінці жовткового мішка (достовірно вищий відносно контрольної групи рівень запусіння судин у цих експериментальних групах); зменшувалися розміри тіла зародків (33,3 %, 41,2 % та 90 % маленьких зародків у групах із технічним вугіллям, алмазними наночасточками і терморозширеним графітом відповідно при 13% у контрольній групі).

2. Результати проведених світлооптичних та ультраструктурних досліджень курячих ембріонів протягом всього періоду ембріогенезу на тканинному і клітинному рівнях не виявили патологічного впливу активованого вугілля на зародки.

3. Світлооптичні та ультраструктурні дослідження свідчили про негативний вплив технічного вугілля, в першу чергу, на кровоносну систему зародка: ушкодження стінки судин, агрегація еритроцитів, порушення мікроциркуляції органів.

4. Електронно-мікроскопічні дослідження показали здатність алмазних наночасточок до проникнення в клітини, що супроводжувалось враженням мітохондрій і порушенням їх структури.

5. Світлооптичні та ультраструктурні дослідження встановили потужну ушкоджуючу дію терморозширеного графіту щодо провізорних органів та тіла зародка. Наявність пікнозу і рексису ядер, мутна цитоплазма, нечіткі межі та деформація клітин оболонок та тіла ембріона вже на ранніх етапах ембріогенезу вказували на некротичні зміни, спричинені введенням цього матеріалу, на пізніших стадіях тканини перетворювались на клітинний детрит. Введення цього матеріалу призвело до несумісних з подальшим розвитком наслідків: ушкодження судин стінки жовткового мішка, прилеглих тканин зародка, механічного руйнування оболонок та органел клітин, що напряду контактували з часточками та агрегатами цього матеріалу.

6. Активоване вугілля, технічне вугілля та алмазні наночасточки були здатні до міграції організмом з током крові. Гостре ураження кровоносної системи зародків при введенні їм терморозширеного графіту не дало можливості оцінити цей шлях поширення. Встановлено найнижчу серед інших вуглецевих часточок проникну здатність технічного вугілля та найвищу – для алмазних наночасточок. Виразні порушення плазматичної мембрани та клітинних органел включно з двомембранними – мітохондрій та ядер під впливом алмазних наночасточок опосередковано підтверджувало їх присутність в клітинах не тільки зародкових оболонок, а й самого ембріона.

7. Виявлені патологічні зміни в тканинах курячих ембріонів, які зазнали дії технічного вугілля, алмазних наночасточок та терморозширеного графіту, засвідчують можливість їхнього тератогенного впливу на живі організми.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях:

1. Лавриненко В. Є. Вплив вуглецевих матеріалів різної дисперсності на макроскопічні показники ембріогенезу курки / В. Є. Лавриненко, Ю. Б. Чайковський // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. – 2014. – 3 (68). – С. 80–83. *(Здобувачем особисто проведено макроскопічне дослідження зародків експериментальних груп щодо порівняння впливів активованого вугілля, технічного вугілля, алмазних наночасточок та терморозширеного графіту на ембріогенез курки; задокументовано патології, викликані дією цих речовин).*
2. Лавриненко В. Біологічний вплив алмазних наночасточок та технічного вугілля на структурно-функціональний стан нирок курячих ембріонів / В. Лавриненко, Ю. Чайковський, Л. Дегтярьова // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія. – 2015. – 2 (70). – С. 61–64. *(Здобувачем особисто проведено гістологічне дослідження нирок зародків експериментальних груп щодо порівняння впливів алмазних наночасточок та технічного вугілля; документування патологій, викликаних дією алмазних наночасточок та технічного вугілля; проведення морфометричних досліджень площі епітелію проксимальних та дистальних сегментів ниркових каналців; статистична обробка та інтерпретація результатів, отриманих у досліджуваних групах; формулювання висновків щодо порівняння біологічних ефектів алмазних наночасточок та технічного вугілля).*
3. Лавриненко В. Є. Біологічний вплив алмазних наночасточок та технічного вугілля на структурно-функціональний стан нирок курячих ембріонів / В. Є. Лавриненко // Вісник проблем біології та медицини. – 2015. – Вип. 2, Т. 1 (118). – С. 269–273
4. Lavrinenko V. E. A novel biocompatibility test for disperse materials / V. P. Tereshchenko, L. V. Degtiariova, T. P. Segeda, O. N. Ivanova, S. S. Zinabadinova, V. E. Lavrinenko // Journal of preclinical and clinical research. – 2015. – 9 (1). – P. 67–69. *(Здобувачем особисто проведено макроскопічне дослідження зародків експериментальної групи щодо визначення впливу активованого вугілля на ембріогенез курки; гістологічне дослідження тканин, що зазнали впливу часточок активованого вугілля; формулювання висновків щодо біологічних ефектів часточок активованого вугілля).*
5. Влияние наноалмазов и углеродных нановолокон на выживаемость и ультраструктуру клеток куриных эмбрионов / В. Е. Лавриненко, С. С. Зинабадинова, Ю. Б. Чайковский, Л. М. Сокуренок, Л. Б. Шобат // Georgian Medical News. – 2016. – № 6 (255). – С. 93–99. *(Здобувачем особисто проведено макроскопічне визначення впливу алмазних наночасточок на ембріогенез курки, статистична обробка отриманих даних; гістологічне дослідження тканин, що зазнали впливу алмазних наночасточок; документування на електронному мікроскопі патологій, викликаних дією алмазних наночасточок; інтерпретація результатів, отриманих у групі із введенням алмазних наночасточок; формулювання висновків щодо біологічних ефектів алмазних наночасточок).*

Статті в інших виданнях:

6. Лавриненко В.Є. Тератогенні ефекти різних класів наноматеріалів / В. Є. Лавриненко, С. С. Зінабадінова // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2010. – Вип. 3. – С. 57. *(Здобувачем особисто проведено експериментальну роботу, статистичну обробку результатів та підготовку матеріалів до друку).*

7. Лавриненко В. Е. О вероятной повреждающей роли наночастиц у пострадавших от чернобыльской катастрофы / В. А. Сушко, В. П. Терещенко, С. С. Зинабадінова, В. Е. Лавриненко // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. – 2012. – № 17. – С. 308–316. *(Здобувачем особисто проведено експериментальну роботу, статистичну обробку результатів та підготовку матеріалів до друку).*

Тези наукових доповідей:

8. Лавриненко В. Є. Вплив вуглецевого ентеросорбенту на біологічні об'єкти / В. Є. Лавриненко // Матеріали ІХ наукової конференції студентів та молодих науковців в Україні, 23–26 березня 2009 р.: матеріали конференції. – Київ, 2009. – С. 57.

9. Лавриненко В. Є. Морфологічна верифікація впливу нанорозмірних об'єктів на живі організми / В. Є. Лавриненко, С. С. Зінабадінова // Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання сучасної патоморфології», 4-5 жовтня 2012: матеріали конференції. – Київ, 2012. – С. 108.

10. Лавриненко В. Є. Патогенні властивості технічного вугілля (сажі) / В. Є. Лавриненко // ІХ конгрес патологів України «Актуальні проблеми патології», 15–17 травня 2013: матеріали конгресу. – Луганськ, 2013. – С. 195.

АНОТАЦІЯ

Лавриненко В.Є. Біологічний вплив вуглецевих матеріалів різної дисперсності на курячі ембріони. – Рукопис.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, МОН України, Київ, 2016.

Дисертація присвячена вивченню впливу активованого вугілля, технічного вугілля (сажі), алмазних наночасточок та терморозширеного графіту на цілісний організм, що розвивається, з оцінкою проникної здатності і тропності до тканин. В якості моделі впливу використовувались ембріони курей породи Хай-Лайн білий (бройлери).

Результати проведених досліджень не виявили патологічного впливу активованого вугілля на зародки, показали негативних вплив технічного вугілля, в першу чергу, на кровоносну систему зародка та здатність алмазних наночасточок до проникнення в клітини з ураженням їх структур. Нами констатовано різко негативних вплив терморозширеного графіту на тіло та провізорні органи зародка.

Всі вуглецеві матеріали проявили здатність до проникнення в організм зародка та міграції в ньому.

Ключові слова: активоване вугілля, технічне вугілля, алмазні наночасточки, терморозширений графіт, біологічні ефекти, біосумісність, курячі ембріони.

АННОТАЦІЯ

Лавриненко В.Е. Биологическое влияние углеродных материалов разной дисперсности на куриные эмбрионы. – Рукопись.

Диссертация на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11 цитология, клеточная биология, гистология – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, МОН Украины, Киев, 2016.

Диссертация посвящена изучению влияния активированного угля, технического угля (сажи), алмазных наночастичек и терморасширенного графита на целостный развивающийся организм, с оценкой проникающей способности и тропности к тканям. В качестве модели влияния использовались эмбрионы курей породы Хай-Лайн белый (бройлеры).

Результаты проведенных исследований не обнаружили патологического влияния активированного угля на зародыши, свидетельствовали о негативном влиянии технического угля, в первую очередь, на кровеносную систему зародыша и способности алмазных наночастичек к проникновению в клетки с поражением их структур. Мы констатировали резко негативное влияние терморасширенного графита на тело и провизорные органы зародыша.

Все углеродные материалы проявили способность к проникновению в организм зародыша и миграции в нем.

Ключевые слова: активированный уголь, технический уголь, алмазные наночастички, терморасширенный графит, биологические эффекты, биосовместимость, куриные эмбрионы.

ANNOTATION

Lavrinenko V.E. Biological effects of carbon materials of various particle size on chicken embryos. – Manuscript.

Thesis for obtaining the scientific degree of Candidate of Biological sciences in speciality 03.00.11 cytology, cell biology, histology. – Taras Shevchenko National University of Kyiv Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2016.

Dissertation is devoted to evaluation of effects of activated charcoal, soot, nanodiamonds and thermoexpanded graphite on the whole organism. We also aimed to estimate the penetrating ability and affinity of these materials to certain tissues. We have chosen chicken embryo as a model for our research.

The data was obtained using microscopic, morphometric and statistical methods. In our research the suspensions of researched materials were injected in the embryo's yolk sac, the tissues were taken on the third, fourteenth and twentieth days of incubation.

We have shown a negative effect of soot, nanodiamonds and thermoexpanded graphite on embryogenesis. The macroscopic analysis shows increase of mortality rate in experimental groups. Our macroscopic study also shows circulation failure in the wall of yolk sac in these experimental groups. The size of embryo body decreased.

Results of light and electron microscopy studies of chicken embryos during the whole period of incubation haven't shown any pathological influence of activated charcoal on embryo tissues or cells. The same studies have proved the negative effect of soot on embryogenesis in general and especially on circulatory system of the embryo. Results of electron microscopy demonstrated the ability of nanodiamonds to penetrate both tissues and cells, to cross not only plasma membrane but also double membranes of nuclei and mitochondria. The penetration of these particles to mitochondria damaged these organelles, violated their internal structure and functions and subsequently caused oxidative stress in the cell.

According to the microscopic research both soot and nanodiamonds were shown to have alteration effect on embryo's excretion organs.

Results of both light and electron microscopy demonstrated a powerful negative effect of thermoexpanded graphite on embryo body and extraembryonic organs.

Our research has also shown the ability of activated charcoal, soot and nanodiamonds to migrate around the embryo body with blood flow. Acute damage of embryo circulatory system connected with introduction of thermoexpanded graphite didn't let us evaluate this way of spreading. We detected the lowest penetration ability of soot and the highest of nanodiamonds.

Comparison of carbon particles sizes and penetration abilities lead us to the following logical conclusion: the smaller the particle is the higher penetration ability it has. Another important factor that influences the ability of studied materials to get into tissues is their aggregation.

All the pathological processes that we have found in chicken embryo tissues, in groups with soot, nanodiamonds and expanded graphite prove the teratogenic effects of these materials on living organisms.

Key words: activated charcoal, soot, nanodiamonds, thermoexpanded graphite, biological effects, biocompatibility, chicken embryo.