

© КОЛЕКТИВ АКТОРІВ, 2013

К.М. Ігрунова, І.В. Дзюблик, О.П. Трохименко,  
С.О. Соловійов, Д.В. Ватліцов**ФАКТОР НЕКРОЗУ ПУХЛИН TNF-а ЯК РЕГУЛЯТОР БАЛАНСУ  
МІТОЗУ І АПОПТОЗУ У КУЛЬТУРІ КЛІТИН НЕР-2**Національна медична академія післядипломної освіти  
імені П. Л. Шупика

Вступ. Сьогодні проблема дослідження балансу мітозу і апоптозу є вкрай актуальною. Вона тісно пов'язана з вивченням механізмів регуляції проліферативної активності клітин за допомогою біологічно активних речовин як ендогенного, так і екзогенного походження. Серед них на особливу увагу заслуговують індуктори проліферації клітин, що впливають на певні фази клітинного циклу (індуктори синхронізації), та індуктори програмованої загибелі клітин (індуктори апоптозу). Вкрай актуальною є розробка методичних підходів до вивчення механізмів біологічної дії прозапальних ендотоксинів в культурі клітин в контрольованих умовах *in vitro*, проте досі такі дослідження проведені не були.

Мета. Дослідження впливу TNF-а на баланс мітозу і апоптозу перещеплювальної культури клітин карциноми гортані людини НЕР-2 в залежності від фази її росту у момент початку дії індуктора.

Методи. Культивування клітин *in vitro*, цитофлюориметричні, математичні. TNF-а вносили на сформовані клітинні моношари перещеплювальної культури клітин НЕР-2 через 24, 48 і 72 години від початку культивування, клітинний цикл і апоптоз вивчали через 24 години після початку дії індуктора. При обробці отриманих чисельних значень балансу мітозу і апоптозу клітин у різних фазах росту культури використовувався пакет програм Mathcad 15. Для побудови графіків залежності розглянутих функцій від відповідних параметрів а також для пошуку критичних точок на побудованих графіках використовувався стандартний метод сплайн-інтерполяції.

Результати. Розроблено адекватну модель для дослідження та прогнозування впливу біологічно активних речовин, і зокрема природного ендотоксину TNF-а, на фази клітинного циклу та перебіг апоптозу перещеплювальної культури клітин НЕР-2 в контрольованих умовах, тобто на клітинах однієї генерації з урахуванням фази її росту у момент початку дії індуктора. Встановлено, що TNF-а у фізіологічній концентрації 50 пг/мл є найбільш ефективним регулятором балансу мітозу і апоптозу у випадку дії на клітини культури, яка знаходиться в середній-пізній логарифмічній фазі росту, тобто на старіючі і старі клітини. Разом з тим TNF-а не впливав на ранні стадії апоптозу у клітинах на всіх фазах росту культури. В системі *in vitro* TNF-а, використаний у фізіологічній концентрації як індуктор апоптозу, виявився одночасно і індуктором синхронізації культури клітин в S-фазі циклу та селективно сприяв накопиченню в культурі НЕР-2 найбільш стійких клітин без ознак апоптозу або таких, в яких апоптичні зміни були зворотними. Одержані результати дозволяють зробити припущення, що і на рівні цілісного організму TNF-а сприяє стабілізації найбільш життєздатних клітин серед молодих клітин певних генерацій (наприклад, імунокомпетентних клітин) та елімінації старіючих, старих та ушкоджених клітин, що виконали свої біологічні функції.

Ключові слова: фактор некрозу пухлин альфа, перещеплювальна культура клітин НЕР-2, клітинний цикл, апоптоз.

### ВСТУП

Сьогодні проблема дослідження балансу мітозу і апоптозу є вкрай актуальною. Вона тісно пов'язана з вивченням механізмів регуляції проліферативної активності та програмованої загибелі клітин під дією біологічно активних речовин як ендогенного, так і екзогенного походження. Серед них на особливу увагу заслуговують індуктори проліферації клітин, що впливають на певні фази клітинного циклу (індуктори синхронізації), та індуктори програмованої загибелі клітин (індуктори апоптозу). У зв'язку з цим, вкрай актуальним є вивчення механізмів біологічної дії ендотоксинів, які індукують в організмі запальні та руйнівні процеси, або сприяють активації протоонкогенів.

В живих системах *in vivo* природнім індуктором апоптозу є фактор некрозу пухлин альфа (tumor necrosis alfa) TNF-а, проте механізм його біологічної дії на рівні клітинних систем залишається остаточно не вивченим. Показано, що і в інтактній культурі проліферуючих клітинних ліній частина клітин гине в результаті апоптозу, який, на відмінну від некрозу, протікає як активний процес і є визначальним [1-3].

Відомі поодинокі дослідження апоптозу та клітинного циклу в культурі клітин різного походження, проте систематичних досліджень регуляції балансу мітозу і апоптозу на одній генерації клітин досі проведено не було, що не дало можливості провести аналіз взаємозв'язків між цими показниками [3]. Збереження балансу мітозу і апоптозу як правило, підвищує життєздатність живих клітин в культурі, проте дослідження апоптичних змін у співставленні з параметрами клітинного циклу в залежності від ступеня зрілості клітин у культурі досі не проводилось. Встановлення таких взаємозв'язків створить теоретичні передумови розробки засобів корекції ендотоксикозу як базисного стану формування метаболічних та онкопроліферативних розладів.

Мета роботи полягала у дослідженні впливу TNF-а на баланс мітозу і апоптозу перещеплювальної культури клітин карциноми гортані людини HEP-2 в залежності від фази її росту.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили в перещеплювальній культурі клітин аденокарцинома гортані людини HEP-2 штаму Сінцинаті (Женева), одержаній із колекції клітинних ліній ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАМН України. Для її культивування використовували ростове живильне середовище на основі середовищ ДМЕМ і 199 (БіоТестМед, Україна), у рівних співвідношеннях з додаванням 5 % сироватки крові ембріонів корів (Sigma США) та антибіотиків: пеніциліну і стрептоміцину (Arterium, Україна) у кінцевих концентраціях відповідно 100 Од/мл і 100 мкг/мл. Підтримуюче середовище аналогічного складу без сироватки використовували для відмивання клітинних моношарів і приготування розчину індуктора. Як індуктор апоптозу використовували ліофілізований препарат TNF-а (Sigma, США) у кінцевій концентрації 50,0 пкг/мл.

Дослідження виконували мікрометодом, клітини культивували у полістиролових матрасах і 24-лункових планшетах для культур клітин виробництва Sarstedt (Німеччина). Мікроскопічний контроль якості клітинних моношарів культури клітин HEP-2 проводили під інвертованим мікроскопом PrimoVert (Karl Zeiss, Німеччина).

Клітини, отримані в результаті попереднього культивування на рівні 8-10 пасажів знімали з поверхні росту розчином Версена і суспендували у ростовому

живильному середовищі. Суспензію клітин у посівній концентрації  $8 \times 10^5$  кл/мл вносили по 1,0 мл у лунки 24-лункового планшета і культивували впродовж 24, 48, 72 годин при  $37^\circ\text{C}$  в атмосфері 5%  $\text{CO}_2$ . Після формування цілісного моношару ростове середовище видаляли.

Готували розчин TNF-а у підтримуючому живильному середовищі і наносили його у кінцевій концентрації 50,0 пкг/мл на сформовані попередньо відмиті моношари культури клітин HEP-2, які знаходились у різних фазах росту у момент початку дії індуктора: (24 год. – рання лог-фаза, 48 год. – середня лог-фаза, 72 год. – пізня лог-фаза). В контрольні лунки планшета на вносили тільки підтримуюче середовище. Клітини інкубували при  $37^\circ\text{C}$  в атмосфері 5%  $\text{CO}_2$  впродовж 24 годин. Після цього розчин TNF-а видаляли, клітини знімали з поверхні розчином Версена, відмивали фізіологічним розчином та суспендували у охолоджену розчині фосфатно-сольовому буфері PBS. Для цитофлюориметричних досліджень використовували суспензію клітин з концентрацією клітин  $1 \times 10^6$  кл/мл.

Визначення параметрів клітинного циклу та апоптозу проводили на проточному цитофлюориметрі серії PAS (Partec, Німеччина з аргоним лазером 488 нм на зеленому (FITC) і червоному (PI) світлофільтрах. При дослідженні клітинного циклу використовували фарбування клітин пропідій йодидом (Sigma, США) [5].

Методом проточної цитофлюориметрії з використанням флуоресціюючих фарбників анексину-V-FITC визначали відносну кількість (частку) клітин, в %, які мають ознаки раннього апоптозу, пізнього апоптозу, а також відносну кількість живих клітин та життєздатних клітин, які не мають жодних ознак апоптозу. При виконанні досліджень використовували тест-набір AnnexinV Apoptosis Detection KIT I (BD Pharmigen, США) [6]. Обробку отриманих даних виконували в програмі FlowMax.

При обробці отриманих чисельних значень параметрів клітинного циклу та апоптозу використовувався пакет програм Mathcad 13. Для побудови графіків залежності розглянутих функцій від відповідних параметрів а також для пошуку критичних точок на побудованих графіках використовувався стандартний метод сплайн-інтерполяції [7].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В основу методу дослідження загибелі клітин при фарбуванні анексином V покладено той принцип, що на ранній стадії апоптозу цілісність клітинної мембрани зберігається, проте відбувається перебудова її фосфоліпідних компонентів і на поверхні клітин з'являється фосфатидилсерин, який здатен зв'язуватись з анексином V в присутності іонів кальцію. Одночасне фарбування анексином V-FITC і пропідій йодидом дозволяє віддиференціювати клітини, що залишаються живими, але знаходяться на ранній стадії апоптозу від клітин що вже загинули (на стадії пізнього апоптозу або некрозу).

Результати дослідження зміни відносної кількості клітин на стадії раннього апоптозу в залежності від ступеня зрілості культури (молода (24 годинна), зріла (48 година) і старіюча (72 година) культури у момент початку дії індуктора представлені на рис.1-2.

## ПРОБЛЕМНІ ПИТАННЯ

На рис. 1. зображено графік залежності відносної кількості ранньо-апоптичних клітин, що культивувалися із TNF-а, від ступеня зрілості культури у момент початку дії індуктора.

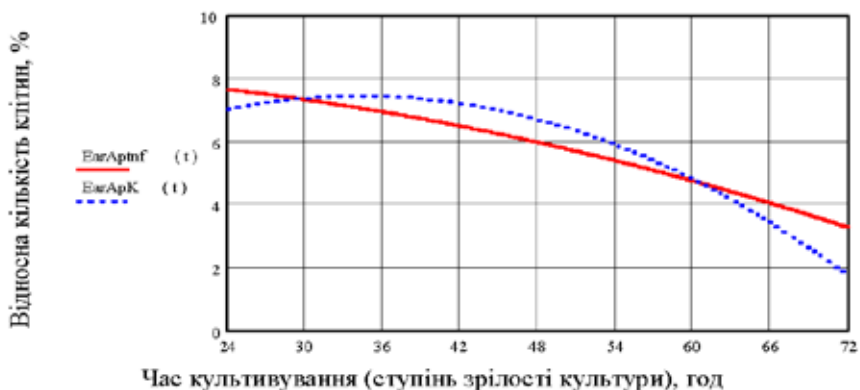


Рис. 1. Залежність частки клітин, що знаходяться на стадії раннього апоптозу після дії TNF-а (EarAptnf) та в контролі (EarApK) від фази росту культури у момент початку дії індуктора

На отриманому графіку відзначали такі критичні точки:

$$t(\text{EarApK})_{\text{max}} = 34,5 \text{ години,}$$

$$\text{EarApK}(34,5 \text{ год}) = 7,45\% .$$

Аналіз представлених результатів показав, що під дією фактору некрозу пухлин частка клітин, що мають ознаки раннього апоптозу стабільно зменшується із віком культури. Тобто, чим більш зріла культура, тим менше в ній ранньоапоптичних клітин. Крива, що відображає частку клітин із ознаками раннього апоптозу, культивованих без додавання TNF-а має чіткий максимум, що відповідає віку культури, рівному 34-35 (34,5 години). До того ж криві EarAptnf і EarApK, що відображають відповідні залежності, перетинаються, і між часом культивування, у 30 та 60 години. В обробленій TNF-а культурі спостерігається менша частка клітин з ознаками раннього апоптозу серед усіх клітин, на які впливав TNF-а, порівняно із контролем. Проте, оскільки статистично значиме відхилення контрольних даних на 1,1% а також незначна різниця між результатами на даному проміжку (в точці оптимуму різниця між відносними кількостями клітин із додаванням індуктору та без нього менша ніж 1%), така різниця між показниками не є статистично достовірною, а лише вказує на певну тенденцію впливу TNF-а. Тобто за цими результатами можна лише відзначити, що приблизно до 60 годин культивування, відносна кількість ранньоапоптичних клітин у культурі, обробленій TNF-а, достовірно не відрізняється від контролю. Для клітин, які культивували більше ніж 60 годин, і на які впливали TNF-а, відносна кількість ранньоапоптичних клітин незначно зростала в порівнянні із контролем. Це свідчить, що TNF-а практично не впливає на перебіг ранніх стадій

апоптозу у клітинах культури НЕР-2 різного ступеня зрілості. Тобто для встановлення особливостей зміни стійкості таких культур до дії TNF-а необхідно дослідити динаміку змін відносної кількості клітин на стадії пізнього апоптозу та некрозу за аналогічних умов впливу TNF-а.

Результати дослідження зміни частки клітин на стадії пізнього апоптозу і некрозу залежно від ступеня їх зрілості у момент початку дії індуктора представлені на рис. 2.

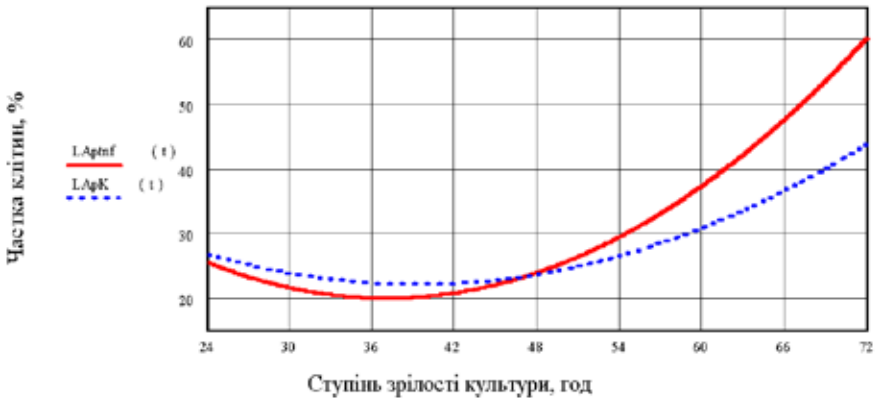


Рис. 2. Залежність зміни частки пізноапоптичних та некротичних клітин, під дією TNF-а (LApTnf) та в контролі (LApK) від фази росту культури у момент початку дії індуктора

На отриманому графіку відзначались такі критичні точки:

$$t(\text{LApK})_{\min} = 39 \text{ годин, LApK}(39 \text{ год.}) = 22,07\%,$$

$$t(\text{LApTnf})_{\min} = 37 \text{ годин, LApTnf}(37 \text{ год.}) = 19,92\%.$$

Аналіз результатів, представлених на рис. 2. показав, що відносна кількість клітин з ознаками пізнього апоптозу, на початковому етапі не залежала від дії індуктора і зменшувалась до 37-39 години від початку його внесення, а після чого починала збільшуватись при продовженні культивування до 48 години. Якщо час культивування культури и досягав або перевищував 48 годин на момент дії індуктора (середня логарифмічна фаза росту), зростання частки клітин з ознаками пізнього апоптозу відбувалось стрімкіше, ніж в контролі, однак про дійсну чисельну різницю між цими кривими судити важко з огляду на велике можливе відхилення чисельних значень.

Слід зазначити, що для культури, що культивувалася перед початком дії індуктора більше 48-и годин, (зрілої культури) спостерігали збільшення відносної кількості клітин із ознаками пізнього апоптозу. Більш того, на проміжку віку культури перед початком дії TNF-а від 24 до 48 години спостерігалась більша стійкість клітин, культивованих із TNF-а до індукції ним пізнього апоптозу порівняно із контролем. Ці закономірності можна пояснити тим, що в період ранньої логарифмічної фази росту культури клітин, більшість клітин знаходилась у S-фазі циклу, і зменшувалась частки

## ПРОБЛЕМНІ ПИТАННЯ

---

клітин у G1-фазі порівняно із незначною (меншою за контроль) долею клітин у G2 і, що особливо важливо, у фазі мітозу. Тобто, більшість клітини на даному часовому проміжку знаходились у S-фазі циклу інтенсивно синтезували ДНК та не вступали у мітоз, в якому вони є найбільш вразливими до дії TNF-а як індуктора апоптозу.

Теоретично можливо передбачити взаємозв'язок між параметрами клітинного циклу і перебігом апоптозу тобто балансом мітозу і апоптозу. Згідно даних літератури ген p53 є антионкогеном і одночасно відповідає за перебіг G1/S-фази [8-9]. Динаміка зміни відносної кількості клітин у певній фазі клітинного циклу детермінує більшу чи меншу стійкість клітин до індукторів апоптозу. Серед клітин, синхронізованих у S-фазі клітинного циклу, виявляється значний відсоток ранньоапоптичних клітин, а відносна кількість клітин без ознак апоптозу є може бути навіть більшою ніж в контролі.

Таким чином, в системі *in vitro* ендогенний індуктор апоптозу TNF-а, у фізіологічній концентрації 50 пг/мл є індуктором синхронізації клітинних культур в S-фазі клітинного циклу і виступає як чинник відбору найбільш стійких клітин без ознак апоптозу або таких, в яких апоптичні зміни є зворотними. Одержані результати дозволяють зробити припущення, що на рівні організму біологічна дія TNF-а сприяє відбору найбільш життєздатних клітин серед молодих клітин певної генерації та елімінації клонів клітин старіючих і старих клітин, що виконали свої біологічні функції.

### ВИСНОВКИ

Розроблено адекватну модель для дослідження та прогнозування впливу біологічно активних речовин, і зокрема природного ендотоксину TNF-а, на параметри клітинного циклу та перебіг апоптозу культури клітин в системі *in vitro*, тобто на баланс мітозу і апоптозу.

Встановлено, що TNF-а практично не впливав на перебіг ранніх стадій апоптозу у клітинах культури HEP-2 у різних фазах її росту. У культурі, фаза росту якої перед початком дії індуктора перевищувала 48 годин, (зріла культура) спостерігали збільшення відносної кількості клітин із ознаками пізнього апоптозу. На проміжку культивування культури HEP-2 від 24 до 48 годин перед початком дії індуктора (молода культура), спостерігали більшу стійкість клітин до індукції в них пізнього апоптозу за допомогою TNF-а, порівняно із контролем.

В системі *in vitro* TNF-а, використаний у фізіологічній концентрації як індуктор апоптозу, виявився одночасно і індуктором синхронізації культури клітин в S-фазі циклу та селективно сприяв накопиченню в культурі HEP-2 найбільш стійких клітин без ознак апоптозу або таких, в яких апоптичні зміни були зворотними. Одержані результати дозволяють зробити припущення, що і на рівні цілісного організму TNF-а сприяє стабілізації найбільш життєздатних клітин серед молодих клітин певних генерацій (наприклад, імунокомпетентних клітин) та елімінації старіючих, старих та ушкоджених клітин, що виконали свої біологічні функції.

### Література

1. Архипов С.А., Ильин Д. А., Михайлова Л. П. и др. Изучение закономерностей индукции апоптоза, некроза и дистрофии в культурах генотипически различных перитонеальных клеток. Фундаментальные исследования. 2005, 5: 36-37 .
2. Ильин Д.А. Проявления спонтанного апоптоза в культуре злокачественных клеток. Сибирский онкологический журнал. 2008, 1: 60-61.

3. Бажанова Е.Д. Роль TNF в механізмах апоптоза. Естественные науки. 2010, 4: 99-109.
4. Колышкин В.М., Ночевний В.Т. Апоптоз как фактор отбора и стандартизации перевиваемых линий клеток. Матеріали міжнародної конференції: «Клінічні нейронауки: нейрофізіологія, неврологія, нейрохірургія» (KNN@N'2004), 5-11 жовтня 2004: 71-72.
5. Krishan A. Rapid flow cytofluorometric analysis of mammalian cell cycle by propidium iodide staining. The Journal of Cell Biology. 1975, 66: 188-193.
6. [http://www.bdbiosciences.com/external\\_files/pm/doc/tds/cell\\_bio/live/web\\_enabled/6693KK\\_556547.pdf](http://www.bdbiosciences.com/external_files/pm/doc/tds/cell_bio/live/web_enabled/6693KK_556547.pdf)
7. Образовательный математический сайт Exponenta.ru  
[http://www.exponenta.ru/SOFT/Mathcad/UsersGuide/NumerMethods/D\\_1.asp](http://www.exponenta.ru/SOFT/Mathcad/UsersGuide/NumerMethods/D_1.asp)
8. Чумаков П.М. Функция гена p53: выбор между жизнью и смертью. Биохимия. 2000, 65: 34-47.
9. Olivero O.A., Chang P.K., Lopez-Iarrazza D.M., Semino-Mora M.C., Poirier M.C. Preferential formation and decreased removal of cisplatin-DNA adducts in chinese hamster ovary cell mitochondrial DNA as compared to nuclear DNA. Mutat Res, 1997, 391 (1-2): 79-86.

К.Н. Игрунова, И.В. Дзюблик, Е.П. Трохименко,  
С.О. Соловьев, Д.В. Ватлицов

## Фактор некроза опухолей TNF-а как регулятор баланса митоза и апоптоза в культуре клеток HEP-2

Национальная медицинская академия последипломного образования  
имени П. Л. Шупика

Актуальность. Сегодня проблема исследования баланса митоза и апоптоза является крайне актуальной. Она тесно связана с изучением механизмов регуляции пролиферативной активности клеток с помощью биологически активных веществ как эндогенного, так и экзогенного происхождения. Среди них особого внимания заслуживают индукторы пролиферации клеток, влияющие на определенные фазы клеточного цикла (индукторы синхронизации), и индукторы программируемой гибели клеток (индукторы апоптоза). Крайне актуальной является разработка методических подходов к изучению механизмов биологического действия эндотоксинов в культуре клеток в контролируемых условиях *in vitro*, однако до сих пор такие исследования проведены не были.

Цель. Исследование влияния TNF-а на баланс митоза и апоптоза в клетках перевиваемой культуры карциномы гортани человека HEP-2 в зависимости от фазы роста культуры в момент начала действия индуктора.

Методы. Культивирование клеток *in vitro*, цитофлюориметрические, математические. TNF-а вносили на сформированных клеточных монослоях перевиваемой культуры клеток HEP-2 через 24, 48 и 72 часа после начала культивирования, клеточный цикл и апоптоз изучали через 24 часа после внесения индуктора. При обработке полученных численных значений баланса митоза и апоптоза клеток культуры в различных фазах ее

роста використовувався пакет програм Mathcad 15. Для побудови графіків залежності розраховуваних функцій від відповідних параметрів, а також для пошуку критических точок на побудованих графіках використовувався стандартний метод сплайн-інтерполяції.

Результати. Розроблена адекватна модель для дослідження і прогнозування впливу біологічно активних речовин, і в частині природного ендотоксину TNF- $\alpha$ , на фази клітинного циклу і течію апоптозу перевиваємої культури кліток HEP-2 в контролюємих умовах, то єсть на клітках одної генерації з урахуванням фази її росту в момент початку дії індуктора. Встановлено, що TNF- $\alpha$  в фізіологічєскої концентрації 50 пг / мл євляєтьсє найбільє ефективною регулятором балансу мітозу і апоптозу в случєє дії на клітки культури, находячисєє в середнь-поздньєї логарифмічєскої фазєє росту, то єсть на старєєючєє і старєє клітки. Вмєстє з тем TNF- $\alpha$  не впливєє на ранньєї стадії апоптозу в клітках культури в рєзньєх фазах росту. В системєє *in vitro* TNF- $\alpha$ , використаний в фізіологічєскої концентрації як індуктор апоптозу, оказавсьєє одночасно і індуктором синхронізації культури кліток в S-фазєє циклу і селективно спосібствовєєє накопленню в культурєє HEP-2 найбільє стійких кліток без ознак апоптозу или таких, в котрих апоптичєскєє змієєня євляютьсєє оборотимими. Отриманєє результєєти показувєєють, що і на уровньєє цєєлєстного організму TNF- $\alpha$  спосібствовєєє стабілізації найбільє житєєспєєсних кліток среди молодих кліток определєєних поколєєнь (напримєєр, іммунокомпєєтєєнтних кліток) і елімінації старєєючих, старих і поєєвреждєєних кліток, котриєє виконєєли свої біологічєскєє функції.

Ключєєвєє словєє: фєєктор некрозу опухолєєї альфа, перевивєєємаєє культура кліток HEP-2, клітинний цикл, апоптоз.

K.M. Igrunoova, I.V. Dzublik, E.P. Trokhymenko,  
S.O. Soloviyev, D.V. Vatlitsov

### Factor of necrosis of tumors TNF- $\alpha$ as regulator on the balance of mitosis and apoptosis of cell culture of human larynx carcinoma HEP-2

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education

**Introduction.** Today the problem of studies of mitosis and apoptosis balance is extremely important. It is closely related to the study of mechanisms of regulation of cell proliferation activity with biologically active substances of endogenous and exogenous origin. Among them, special attention should be taken to inducers of cell proliferation, affecting certain phases of the cell cycle (synchronization inducers) and inducers of programmed cell death (apoptosis inducers). Extremely relevant is the development of methodological approaches to the study of the mechanisms of biological action of endotoxin in cell culture under controlled conditions *in vitro*, but such studies have not been conducted.

**Aim.** Investigation of the influence of TNF- $\alpha$  on the balance of mitosis and apoptosis of cell culture of human larynx carcinoma HEP-2, depending on degree of maturity of the cells at the start of the inductor action.

**Methods.** Cultivating of cells *in vitro*, cytofluorimetric, mathematic. Immortalized HEP-2 cells were cultivated in polystyrene plates, TNF- $\alpha$  was added in formed cell monolayers at 24, 48 and



72 hours after start of growth, cell cycle and apoptosis was studied during 24 hours after the start of the inductor action. In processing of the numerical values of the balance of mitosis and apoptosis in culture cells of varying degrees of maturity it was used software package Mathcad 15. For constructing the plots of the functions of the relevant parameters and for finding of the critical points it was used a standard method of spline interpolation.

Results. It was developed an adequate model for study and prediction of the effect of biologically active substances, in particular natural endotoxin TNF- $\alpha$ , on the phases of the cell cycle and apoptosis in cell culture HEP-2 under controlled conditions, such as one cell generation and one maturity level at the start of inductor action. It was found that TNF- $\alpha$  in the physiological concentration of 50 pg / ml is the most effective regulator of mitosis and apoptosis balance, in the case of action in cell cultures and in middle-late logarithmic growth phase. However, TNF- $\alpha$  does not affect the early stages of apoptosis in cell cultures of different degree of maturity. In the system in vitro, TNF- $\alpha$  was used at physiological concentrations as an inducer of apoptosis and showed opportunities for simultaneously synchronization of cell culture in the S-phase of life cycle and selectively promoted accumulation of most stable cells in culture HEP-2 with no signs of apoptosis, or those, in which apoptotic changes are reversible. The results show that on the whole organism TNF- $\alpha$  contributes to the stabilization of the most viable cells of young cells of certain generation (e.g., immune cells) and elimination of aging and old cells, that have fulfilled their biological functions.

Key words: tumor necrosis factor alpha, continuous cell line HEP-2, cell cycle, apoptosis.

© І.П. КОЗЯРІН, О.П. ІВАХНО, 2013

І.П. Козярін, О.П. Івахно

## ВПЛИВ АНТИАЛІМЕНТАРНИХ ЧИННИКІВ ЇЖИ НА ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ

Національна медична академія післядипломної освіти  
імені П.Л. Шупика

Вступ. Питання здорового харчування є однією з актуальних проблем сьогодення. Обізнаність з переліком антиаліментарних чинників їжі необхідна у виборі раціонів харчування та технологічної обробки харчових продуктів для різних груп населення.

Мета. Визначити перелік шкідливих речовин їжі та шляхи контамінації харчових продуктів чужорідними речовинами.

Матеріали та методи. Проведений аналіз наукової літератури щодо наявності та механізму дії шкідливих речовин їжі на організм людини.

Результати. Встановлені шкідливі сполуки неаліментарного походження, які потрапляють у їжу із навколишнього середовища, природні компоненти їжі, що здатні негативно впливати на організм людини, вроджені порушення ферментування з виключенням відповідних етапів обміну речовин (вітамінів, мінералів, білків тощо).

Висновок. При складанні раціонів харчування, виборі кулінарної обробки та технологій виробництва харчових продуктів необхідно враховувати можливість забруднення їх шкідливими речовинами природного або штучного походження та особливості обмінних процесів в організмі споживача.

Ключові слова: харчові речовини, їжа, антиаліментарні чинники.