

УДК 577.1

## ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ КОМПОНЕНТОВ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

Е. М. Климова<sup>1</sup>      <sup>1</sup>ГУ «Институт общей и неотложной хирургии» АМН Украины, Харьков  
Е. В. Лавинская<sup>2</sup>  
А. И. Божков<sup>2</sup>      <sup>2</sup>НИИ биологии Харьковского национального университета  
Т. И. Кордон<sup>1</sup>      им. В. Н. Каразина, Харьков

E-mail: Lavinskaya\_5@mail.ru

Проведен скрининг цитотоксичности сыворотки крови с использованием тест-системы на основе одноклеточной водоросли *Dunaliella viridis*. Выявлены достоверные отличия морфофункциональных показателей *D. viridis*, вызванных цитотоксическими факторами различной природы. Построены паттерны морфофункциональных изменений клеток биоиндикатора в системе координат. Рассчитаны коэффициенты цитотоксичности для исследуемых биологических жидкостей. Наибольшая степень цитотоксичности отмечена в сыворотке крови, полученной от больных с билиарным циррозом ( $K_{Ц} = 13,01 \pm 0,01$ ) и миастенией ( $K_{Ц} = 11,6 \pm 0,76$ ), минимальная ( $K_{Ц} = 5,65 \pm 0,66$ ) — с острыми ва-рикоотромбозами.

**Ключевые слова:** клеточная тест-система, цитотоксичность, биоиндикация, скрининг, паттерн.

Для скрининга потенциальной цитотоксичности веществ может быть использован метод клеточной биоиндикации [1]. Этот способ индикации цитотоксических факторов биологической и химической природы заключается в оценивании изменения морфофункциональных параметров клеток под действием сывороточных факторов [2].

При угрожающих состояниях в организме накапливаются цитотоксические вещества различной природы. Такие вещества могут быть как конечными (избыточное их накопление, задержка элиминации), так и промежуточными продуктами метаболизма при нарушении обмена веществ. Отсутствие продуктов, необходимых для осуществления нормальных анаболических процессов, нарушения вследствие повышения процессов катаболизма и отклонения в биосинтетических процессах могут быть причиной повышения концентрации токсических метаболитов. В связи с этим методы селективного определения различных по размеру и функциям органических соединений, потенциально токсичных для организма, в биологических жидкостях, например в крови, по-прежнему, весьма важны [3].

Стандартные методы анализа обычно дорогостоящие и требуют продолжительного времени для проведения анализа. Поэтому

актуальной является разработка методологии скрининга низко- и высокомолекулярных цитотоксических факторов в биологических жидкостях [4].

В различных направлениях биологии широко применяют детекторные биоиндикационные системы. Такие системы обладают высокой чувствительностью, специфичностью анализа и требуют незначительного количества исследуемого материала [5, 6].

Большой вклад в развитие биоиндикационных технологий внесла биотехнология. В настоящее время благодаря высокочувствительным тест-системам, созданным в результате биотехнологических разработок, появилась возможность диагностировать большое количество заболеваний и патологических состояний с очень высокой точностью и за минимальное время [7].

Биоиндикационные методы определения цитотоксичности основаны на формировании специфического ответного сигнала биологически чувствительной системой, усилении этого сигнала и простой системы регистрации. Учитывая способность клеточной тест-системы давать специфические ответные реакции на действие токсического агента, с ее помощью можно определять суммарные цитотоксические факторы различной природы в биологических жидкостях.

Таким образом, биоиндикация как инструмент скрининг-диагностики является перспективным исследовательским направлением, а тест-системы можно рассматривать как универсальные регистраторы цитотоксических соединений различной природы [8].

По статистическим данным, основные области наиболее успешного использования биоиндикационного анализа — промышленная биотехнология, экология, пищевая промышленность, клиническая диагностика. Актуальными являются разработка и внедрение универсальных клеточных биодатчиков [9].

В качестве клеточных биоиндикаторов могут быть использованы одноклеточные микроводоросли, в частности *Dunaliella*, липенная клеточной стенкой, что обеспечивает прямой контакт тестируемого лиганда непосредственно с клеточной мембраной [10, 11].

Изменение формы, подвижности клеток, строения цитоплазмы и др. зависит не только от свойств клеток, но и от концентрации и свойств определенных химических соединений. Поэтому тест-система может по-разному реагировать на различные химические соединения. Следовательно, клеточную тест-систему можно использовать для определения цитотоксических соединений различной природы [11].

Целью работы была оценка степени цитотоксичности компонентов сыворотки больных различными заболеваниями (острый варикотромбоз, билиарный цирроз, панкреанекроз, миастения, ожоговая болезнь) с помощью тест-системы на основе клеток *Dunaliella viridis*.

### Материалы и методы

Материалом для исследований служили патологические сыворотки крови, содержащие цитотоксические факторы различной природы. Исследования проводили на сыворотках больных с такими патологиями: острые варикотромбозы, панкреанекроз, миастения, билиарный цирроз, ожоговая болезнь.

В исследованиях использовали две группы сравнения. Первая контрольная группа (контроль 1) включала тест-систему с буфером — для оценки возможной спонтанной цитотоксичности культуральной взвеси *D. viridis*. Вторая контрольная группа (контроль 2) состояла из клеточной взвеси тест-системы и сыворотки здоровых доноров.

Исследование цитотоксических факторов проводили с использованием разработанной клеточной тест-системы *D. viridis*,

состоящей из клеточного биоиндикатора, оптической системы регистрации и системы обработки результатов по методу [10]. Для этого в иммунологический планшет вносили в равных объемах исследуемую биологическую жидкость и тест-систему. Инкубацию осуществляли в течение 30 мин при комнатной температуре.

Оценку влияния цитотоксических компонентов на тест-систему проводили по изменению ответной реакции клеток *D. viridis*. Учет изменений включал морфологические (изменение формы клеток) и функциональные (изменение направления движения, утрата подвижности, потеря жгутика, образование агрегатов) характеристики.

В качестве клеточной тест-системы использовали систему, состоящую из предметного стекла с ячейкой, в которую вносили постоянное количество клеток (15 млн./мл) синхронизированной культуры *D. viridis*; светового микроскопа; видеокамеры и компьютера. С помощью автоматизированной программы регистрировали морфологические и функциональные изменения клеток *D. viridis*, а также количество образующихся микро- и макроагрегатов. Затем проводили математическую обработку полученных результатов и вычисляли значения спонтанного коэффициента цитотоксичности, индуцированного коэффициента цитотоксичности и относительного индекса цитотоксичности [11].

Для контрольной группы (контроль 1) рассчитывали коэффициент спонтанной цитотоксичности по формуле (I):

$$K_{СП} = \frac{M_K + \Phi_K + A_K}{3}, \quad (I)$$

где  $M_K$  — процент клеток с измененной формой в контроле;  $\Phi_K$  — процент клеток с измененными функциональными свойствами в контроле;  $A_K$  — процент агрегированных клеток в контроле.

По формуле (II) определяли коэффициент индуцированной цитотоксичности для каждого вида сыворотки, полученной от больных с различными патологическими состояниями:

$$K_{И} = \left( \frac{M_{И} + \Phi_{И} + A_{И}}{3} - K_{СП} \right) \cdot \frac{1}{K_{СП}}, \quad (II)$$

где  $M_{И}$  — процент клеток с измененной формой после инкубации с определенной патологической сывороткой;  $\Phi_{И}$  — процент клеток с измененными функциональными свойствами после инкубации с определенной патологической сывороткой;  $A_{И}$  — процент агрегированных клеток после инкубации

с определенной патологической сывороткой;  $K_{СП}$  — коэффициент спонтанной цитотоксичности контрольного образца.

Интегральный индекс цитотоксичности биологической жидкости рассчитывали по формуле:

$$I_{Ц} = \frac{K_{Ц}}{K_{СП}}, \quad (III)$$

где  $K_{СП}$  — коэффициент спонтанной цитотоксичности контрольного образца;  $K_{Ц}$  — коэффициент индуцированной цитотоксичности для каждого вида сыворотки.

Статистическую обработку результатов эксперимента проводили с использованием критерия Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ). Для обработки цифровых данных и графической визуализации результатов применяли программу Microsoft Excel.

### Результаты и обсуждение

Проведенные нами исследования выявили различную степень цитотоксичности патологических сывороток, полученных от больных с изученными видами патологий. Ее сравнивали со спонтанной цитотоксичностью в контрольной инкубационной взвеси. Коэффициент спонтанной цитотоксичности исходя из формулы (I) не превышал 3,4:

$$K_{СП} = \frac{3,1+7+0}{3} = 3,4,$$

а индекс цитотоксичности был в пределах 1,0, поскольку процент клеток с измененной морфологией составил  $3,1 \pm 0,53\%$ , процент клеток с измененными функциональными показателями —  $7,0 \pm 0,97\%$ .

Совместная инкубация контрольного образца клеточной взвеси тест-системы с сывороткой здоровых доноров (контроль 2) не привела к изменениям в поведении клеток *D. viridis*, превышающих спонтанный уровень. Морфологические изменения составили в среднем  $7,0 \pm 0,91\%$ , а функциональные —  $9 \pm 0,45\%$ , что соответствовало спонтанному уровню изменений. Микро- и макроагрегаты в 1-й и 2-й контрольных группах не обнаружены (табл. 1).

При инкубации сыворотки крови с острыми варикотромбозами с клеточной взвесью *D. viridis* установлено достоверное увеличение морфологических  $20,8 \pm 2,1\%$  и функциональных  $33,4 \pm 2,02\%$  изменений клеток под действием цитотоксических сывороточных факторов. Также были обнаружены образовавшиеся микроагрегаты  $13,6 \pm 3,7\%$  при полном отсутствии их в контрольных группах. Исследованиями возможной цитотоксичности сыворотки крови, полученной от больных с билиарным циррозом, выявлен негативный максимальный эффект на морфофункциональные показатели клеточного биоиндикатора. Патологическая сыворотка, содержащая цитотоксические факторы, индуцировала в среднем до  $73,0 \pm 2,53\%$  морфологических изменений клеток тест-системы, превысив контрольное значение во 2-й группе сравнения в 10 раз. Количество неподвижных клеток в сыворотке больных билиарным циррозом составило  $63,07 \pm 1,72\%$ , что в 7 раз превысило значение в сыворотке доноров и в 2 раза — больных острыми варикотромбозами соответственно. В этой же группе количество агрегированных клеток увеличилось по сравнению с сывороткой больных острыми варикотромбозами на 16% и достигло  $16,2 \pm 6,4\%$ .

Таблица 1. Морфофункциональные изменения клеточной тест-системы под действием сывороточных факторов

Исследуемые биологические среды	Частота встречаемости морфофункциональных изменений на 100 клеток <i>D. viridis</i> , %		
	Морфологические изменения, %	Функциональные изменения, %	Частота встречаемости агрегатов, %
Контроль 1 (с буфером)	$3,1 \pm 0,53$	$7,0 \pm 0,97$	0
Контроль 2 (сыворотка доноров)	$7,0 \pm 0,91$	$9 \pm 0,45$	0
Сыворотка больных с острыми варикотромбозами ( $n = 18$ )	$20,8 \pm 2,1$	$33,4 \pm 2,02$	$13,6 \pm 3,7$
Сыворотка больных билиарным циррозом ( $n = 15$ )	$73,0 \pm 2,53$	$63,07 \pm 1,72$	$16,2 \pm 6,4^*$
Сыворотка ожоговых больных ( $n = 8$ )	$25,6 \pm 1,5$	$60,1 \pm 2,1$	$20,4 \pm 2,6$
Сыворотка больных панкреанекрозом ( $n = 14$ )	$34,1 \pm 2,15$	$42,0 \pm 3,6^*$	$18,2 \pm 3,9$
Сыворотка больных миастенией ( $n = 21$ )	$42,5 \pm 2,25$	$53,0 \pm 1,63$	$26,4 \pm 5,7$

\* — Достоверность различия с контролем  $p \leq 0,05$ .

Результаты исследования возможной цитотоксичности сыворотки крови, полученной от больных ожоговой болезнью, панкреанекрозом и генерализованной миастенией, также выявили достоверное увеличение частоты встречаемости морфологических и функциональных изменений и количества агрегированных клеток по сравнению с контрольными величинами (табл. 1).

Промежуточную группу морфологических и функциональных изменений занимает сыворотка больных панкреанекрозом и генерализованной миастенией. Количество округлых клеток здесь было в 5 и 6 раз соответственно больше, чем в контрольной группе здоровых доноров, а количество неподвижных клеток возросло в 4,6 и 5,8 раза по сравнению с контролем.

В сыворотке больных с ожогами на фоне значительного (до 60%) повышения количества неподвижных клеток наблюдалось в среднем всего 25% округлых форм (табл. 1). Сыворотка крови, полученная от больных с панкреанекрозом и генерализованной миастенией, индуцировала образование не только микро-, но и макроагрегатов, находящихся в окружении экзометаболитов водоросли.

Показатель частоты встречаемости микро- и макроагрегатов клеток *D. viridis* можно рассматривать как информативный показатель наличия цитотоксических факторов в исследуемой биологической жидкости.

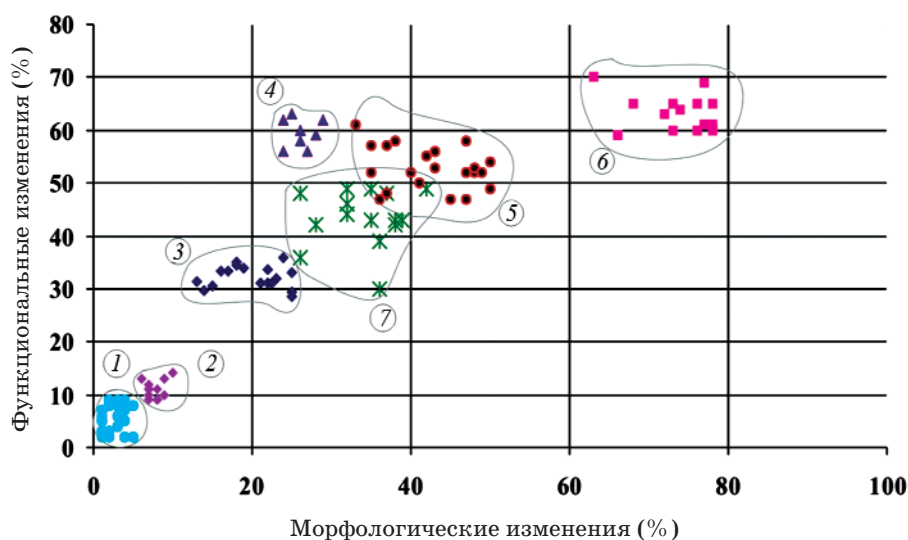
Таким образом, по степени увеличения цитотоксического действия на клетки биоин-

дикационной тест-системы исследованные патологии можно разместить в следующем порядке: острые варикотромбозы — панкреанекроз — генерализованная миастения — ожоговая болезнь — билиарный цирроз.

Результаты показали, что для визуализации и большей информативности данных о цитотоксичности различных патологических сывороток целесообразно в системе координат графически представить паттерны морфологических и функциональных изменений биоиндикатора под действием этих сывороток. Координатные паттерны морфологических и функциональных изменений клеток *D. viridis*, занимающих определенные постоянные области в системе координат, соответствуют индуцированной сывороточной цитотоксичности для индивидуальных патологических сывороток от больных с определенными нозологическими формами.

Полученные данные воспроизводились с высокой достоверностью, что дает основания расценивать результаты как закономерность. Высокая частота встречаемости некоторых соотношений морфологических и функциональных изменений клеточного биоиндикатора, специфических для каждого вида патологии, и соответствующая обработка массива данных позволили рассчитать определенные паттерны изменения клеток в ответ на цитотоксический сигнал в системе координат (рисунок).

Распределение паттернов цитотоксичности патологических сывороток в системе координат демонстрирует достоверное отли-



**Паттерны величины индуцированной цитотоксичности, характеризующие функциональные и морфологические изменения клеточной тест-системы в системе координат при различных патологических состояниях:**

контроль 1 — клеточная взвесь с буфером; контроль 2 — клеточная взвесь и сыворотка здоровых доноров; 3 — острые варикотромбозы; 4 — ожоговая болезнь; 5 — миастения; 6 — билиарный цирроз; 7 — панкреанекроз

чие их от паттернов спонтанной цитотоксичности (1) и цитотоксичности, индуцированной сывороткой здоровых доноров (2). Паттерны контрольных групп располагаются вблизи начала координат (рисунок). Т.е. можно констатировать, что в сыворотке доноров нет цитотоксических факторов, которые оказывали бы негативное воздействие на клетки *D. viridis* тест-системы. Незначительные изменения морфологических и функциональных показателей здесь можно отнести к адаптационным свойствам клеток культуры *D. viridis*.

Паттерны, характеризующие морфологические и функциональные изменения клеток *D. viridis* после инкубации с цитотоксическими сывороточными компонентами, находятся в определенных областях системы координат. Под действием патологических сывороток больных с билиарным циррозом в клетках тест-системы наблюдались максимально выраженные морфологические и функциональные изменения (паттерн 6). Действие сывороток ожоговых больных приводило к формированию преимущественно функциональных изменений (паттерн 4) клеток *D. viridis*, а миастогенных сывороточных факторов (паттерн 5) — к образованию более выраженных морфологических изменений по сравнению с сыворотками ожоговых больных и больных панкреанекрозом (паттерн 7). Минимальные морфологические и функциональные изменения клеточного биоиндикатора наблюдались при действии сывороток больных с острыми варикотромбозами (паттерн 3) (рис. 1).

Построенные паттерны соотношений морфофункциональных изменений клеток *D. viridis* при исследуемых патологических состояниях послужили наглядным методом визуализации для предварительного скрининга их тяжести.

Следующим этапом исследования было определение средних значений коэффициента индуцированной цитотоксичности исследуемых сывороток, содержащих цитотоксические факторы различной природы (табл. 2). В качестве примера рассчитаны коэффициент индуцированной цитотоксичности ( $K_{Ц}$ ) и индекс цитотоксичности ( $I_{Ц}$ ) для сыворотки больных с острым варикотромбозом по формулам (II) и (III) соответственно:

$$K_{Ц} = \left( \frac{20,8 + 33,4 + 13,6}{3} - 3,4 \right) \cdot \frac{1}{3,4} = 5,65;$$

$$I_{Ц} = \frac{5,65}{3,4} = 1,66.$$

Величина коэффициента индуцированной цитотоксичности сыворотки доноров составила  $0,57 \pm 0,4$ , что свидетельствует об отсутствии цитотоксических агентов в данной биологической среде. Индекс цитотоксичности здесь, как и предполагалось, близок к нулю и составил  $0,17 \pm 0,45$ . В то же время во всех исследуемых сыворотках, потенциально содержащих цитотоксические факторы различной природы, наблюдается значительное увеличение коэффициента цитотоксичности. Так, в сыворотке больных острыми варикотромбозами он возрос в 12 раз, а билиарным циррозом — в 23 раза соответственно. Такие же соотношения наблюдались в расчетах индекса цитотоксичности: если в сыворотке доноров этот показатель стремился к нулю, то в сыворотках с различными патологиями он значительно превышал единицу, принятую как пограничное значение нормы в оценке степени цитотоксичности биологической жидкости (табл. 2).

Следовательно, можно констатировать высокую чувствительность клеток *D. viridis* по отношению к цитотоксическому действию сывороточных факторов различной природы.

Таблица 2. Значения коэффициентов индуцированной цитотоксичности

Биологическая жидкость	Коэффициент индуцированной цитотоксичности ( $K_{Ц}$ )	Индекс цитотоксичности ( $I_{Ц}$ )	Коэффициент спонтанной цитотоксичности ( $K_{СП}$ )
Сыворотка доноров	$0,57 \pm 0,4$	$0,17 \pm 0,45$	$3,4 \pm 0,21$
Сыворотка больных с острыми варикотромбозами	$5,65 \pm 0,66$	$1,66 \pm 1,16$	
Сыворотка больных панкреанекрозом	$9,0 \pm 0,61$	$2,65 \pm 0,4$	
Сыворотка больных миастенией	$11,6 \pm 0,76$	$3,43 \pm 0,53$	
Сыворотка ожоговых больных	$10,9 \pm 0,4$	$3,19 \pm 0,45$	
Патологическая сыворотка больных билиарным циррозом	$13,01 \pm 1,01$	$3,83 \pm 0,91$	

\* — Достоверность различия с контролем  $p \leq 0,05$ .

Преимуществами предложенного метода оценки степени цитотоксичности с использованием клеточной тест-системы *D. viridis* по сравнению со стандартными лабораторными методами является высокая чувствительность, быстрое протекание реакции. Также следует отметить, что для анализа требуется минимальное количество исследуемых веществ и сам метод легко воспроизводится. Аналогами предложенного метода можно рассматривать, например, использование в качестве тест-объектов в экологических исследованиях инфузорий *Spirostomum ambigua*, *Paramecium caudatum* и *Tetrahymena pyriformis* [12, 13]. Степень токсичности среды определяется по количеству мертвых клеток. Рассматриваемый же в работе метод позволяет проводить исследование токсических факторов сыворотки крови за счет обеспечения комплементарного взаимодействия со всеми цитотоксическими субстратами. Расчет коэффициентов и индексов цитотоксичности по представленным формулам позволяет проводить биоиндикацию цитотоксических компонентов сыворотки крови с последующей экстраполяцией на организм *in vivo*. Это поможет не только провести предварительный скрининг патологического состояния, но и количественно оценить усиление или снижение цитоток-

сичности под действием экзогенных биологических и химических факторов.

С помощью клеточной тест-системы *D. viridis* выявлено присутствие сывороточных факторов с различной степенью цитотоксичности. Цитотоксические факторы различной природы формируют разнообразные устойчивые паттерны распределения морфологических и функциональных изменений биоиндикатора в системе координат. Наибольшую степень цитотоксичности наблюдали в сыворотке крови, полученной от больных билиарным циррозом ( $K_{Ц} = 13,01 \pm 1,01$ ) и миастенией ( $K_{Ц} = 11,6 \pm 0,76$ ), минимальную ( $K_{Ц} = 5,65 \pm 0,66$ ) — острыми варикотромбозами.

Рассчитанные суммарные коэффициенты и индексы цитотоксичности для исследуемых заболеваний свидетельствуют о значительном превышении коэффициента спонтанной цитотоксичности ( $K_{СП} = 3,4$ ), что позволяет использовать их в оценке степени суммарной цитотоксичности в биологических средах.

Комплексную оценку спектра морфофункциональных показателей клеток *D. viridis* с последующим расчетом интегральных коэффициентов цитотоксичности можно рассматривать как скрининговый метод биоиндикации патологического состояния.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бабкина С. С., Будников Г. К., Упахович Н. А. Биоаффинный метод определения аймалина с помощью амперометрического ДНК-сенсора и иммуноферментной спектрофотометрической тест-системы // Журн. анал. химии. — 2009. — № 9, Т. 64 — С. 982–987.
2. Рощина В. В. Растительные микроспоры как биосенсоры // Усп. совр. биол. — 2006. — № 4. — С. 366–378.
3. Лавриненко И. А., Рябченко А. В., Беклемисhev А. Б. Создание цельноклеточной биосенсорной тест-системы для обнаружения генотоксических воздействий на клетку // Вестник Новосибирского гос. ун-та. Серия: Биология, клиническая медицина. — 2007. — Т. 5, № 1. — С. 95–99.
4. Климова Е. М., Кордон Т. И., Дроздова Л. А., Калашникова Ю. В. Использование клеточного биосенсора для интегральной оценки изменений метаболических и иммунологических показателей у больных различными формами миастении до и после операции // Биол. вестник. — 2007. — Т. 11, № 2. — С. 9–13.
5. Чекман І. С., Горчакова Н. О. Біосенсори: стан та перспективи наукових досліджень // Наука та інновації. — 2008. — Т. 4, № 3. — С. 75–79.
6. Рощина В. В. Растительные микроспоры как биосенсоры // Усп. совр. биол. — 2006. — № 4. — С. 366–378.
7. Rasooly A. Biosensor technologies // J. Meth. — 2005. — V. 37, N 1. — P. 1–3.
8. Климова Е. М., Божков А. И., Бойко В. В., Дроздова Л. А. Использование диагностических клеточных биосенсоров при неотложных хирургических состояниях // Биотехнол. Биотехн. Пищ. Технол. — 2006. — № 1. — С. 105–109.
9. Бойко В. В., Климова Е. М., Божков А. И. и др. Новые возможности выявления цитотоксических сывороточных факторов с помощью клеточных биосенсоров у больных с неотложными хирургическими состояниями // Матер. XXI съезда хирургов Украины. — 2005. — Запорожье. — Т. 2. — С. 440–443.
10. Пат. UA № 19128, A61B10/00, G01N33/49. Процес діагностики і прогнозу клінічного перебігу патологічного процесу / Клімо-

- ва О. М., Божков А. І., Бойко В. В. — Заявл. 24.02.2006; Опубл. 24.02.2006, Бюл. № 12.
11. Пат. UA № 08958, G01N33/15, C12Q1/04, C12M1/34. Спосіб біосенсорної індикації цитотоксичних факторів біологічної і хімічної природи / Клімова О. М., Божков В. В., Бойко В. В., Кордон Т. І., Дроздова Л. А., Лавінська О. В. — Заявл. 28.08.2009; Опубл. 10.03.2010, Бюл. № 5.
12. Быканова С. Н., Суздалева О. С., Серегина О. Б. и др. Использование клеточного биосенсора *Spirostomum ambigua* для характеристики биологической активности компонентов фармацевтических препаратов // Электронный журнал «ИССЛЕДОВАНО В РОССИИ» <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2003/0098.pdf> — С. 1114–1129.
13. Зубанов П. А., Виноходов Д. О., Филимон Е. В. Зависимость чувствительности *Paramecium caudatum* к токсичным веществам от условий обитания // Материалы IV съезда Общества биотехнологов России им. Ю. А. Овчинникова, 17-19 октября 2006 г., Пущино. — С. 60–64.

### ОЦІНКА СТУПЕНЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ КОМПОНЕНТІВ ПАТОЛОГІЧНИХ СИРОВАТОК З ВИКОРИСТАННЯМ КЛІТИННОЇ ТЕСТ-СИСТЕМИ

О. М. Клімова<sup>1</sup>  
О. В. Лавінська<sup>2</sup>  
А. І. Божков<sup>2</sup>  
Т. І. Кордон<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії АМНУ», Харків

<sup>2</sup>НДІ біології Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна, Харків

E-mail: Lavinskaya\_5@mail.ru

Проведено скринінгову індикацію цитотоксичності сироватки крові з використанням тест-системи на основі одноклітинної водорості *Dunaliella viridis*. Виявлено достовірні відмінності морфофункціональних показників клітин *D. viridis*, спричинені цитотоксичними факторами різної природи. Побудовано патерни морфофункціональних змін клітин біоіндикатора в системі координат. Розраховано коефіцієнти цитотоксичності для досліджуваних біологічних рідин. Найбільший ступінь цитотоксичності виявлено в сироватці, що її отримали від хворих з біліарним цирозом ( $K_{II} = 13,01 \pm 0,01$ ) та міастенією ( $K_{II} = 11,6 \pm 0,76$ ), мінімальний ( $K_{II} = 5,65 \pm 0,66$ ) — з гострими варикотромбозами.

**Ключові слова:** клітинна тест-система, цитотоксичність, біоіндикація, скринінг, патерн.

### ESTIMATION OF CYTOTOXICITY DEGREE OF PATHOLOGICAL SERUM COMPONENTS USING CELLULAR TEST-SYSTEM

E. M. Klimova<sup>1</sup>  
E. V. Lavinskaya<sup>2</sup>  
A. I. Bozhkov<sup>2</sup>  
T. I. Kordon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Enterprise «Institute of general and urgent surgery of Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

<sup>2</sup>V. N. Karazin's Research Institute of Biology, Kharkiv National University, Kharkiv

E-mail: Lavinskaya\_5@mail.ru

Screening indication of blood serum cytotoxicity with a test-system based on monocellular algae *Dunaliella viridis* was carried out. Significant differences of morphological and functional parameters *D. viridis*, induced by cytotoxic factors of various nature were detected. Patterns of morphological and functional changes of the bioindicator cells in the coordinate system were defined. Coefficients of toxicity for investigated biological liquids are calculated. Maximum degree of cytotoxicity was revealed in blood serum received from the patients suffering from biliary cirrhosis ( $K_{II} = 13,01 \pm 0,01$ ) and myasthenia ( $K_{II} = 11,6 \pm 0,76$ ), minimal one ( $K_{II} = 5,65 \pm 0,66$ ) was with acute varicothrombosis.

**Key words:** cellular test-system, cytotoxicity, bioindication, screening, pattern.