

Мінченко^{1,2} Д.О.,
Зінченко^{1,2} Т.О.,
Яворовський² О.П.,
Гусчігара³ К.,
Есумі³ Г.,
Мінченко¹ О.Г.

ЕКСПРЕСІЯ SNF1/AMP-АКТИВУЄМОЇ ПРОТЕЙНІКАЗИ (SNARK) У ПЕЧІНЦІ, ЛЕГЕНЯХ, НИРКАХ, ГОЛОВНОМУ МОЗКУ, СІМ'ЯНИКАХ ТА МІОКАРДІ ПРИ ДІЇ НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ НАНОЧАСТОК СРІБЛА

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна Національної академії наук України (м. Київ);

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця (м. Київ);

Research Center for Innovative Oncology, National Cancer Center Hospital East, Kashiwa, Japan;

Резюме. SNF1/AMP-активуєма протеїнкіаза (SNARK) є представником AMPK кіназ, що відносяться до серин/треонінових протеїнкіаз, і відіграє важливу регуляторну роль у багатьох метаболічних процесах в організмі, оскільки вона задіяна у регуляції експресії та активності ряду ключових транскрипційних факторів та пухлинних супресорів. Одержані нами дані показали, що експресія мРНК протеїнкіази SNARK суттєво посилюється у головному мозку, легенях, печінці та нирках щурів уже через один день після інтратрахеального введення щурам наночасток срібла. Цей ефект наночасток срібла виявляється також як через три, так і через 14 днів. Найбільш виражені зміни в експресії мРНК протеїнкіази SNARK спостерігалися через три дні після введення наночасток срібла у головному мозку, печінці та нирках щурів, а у легенях – через один день. У сім'янках та серці також виявляється посилення експресії мРНК протеїнкіази SNARK при дії на організм наночасток срібла, але в значно менший мірі, порівняно з головним мозком і то лише через три дні. Результати даної роботи свідчать про можливу дію наночасток срібла на важливі механізми регуляції метаболічних процесів у клітинах на рівні експресії генів ключових протеїнкіаз, зокрема протеїнкіази SNARK, що може призводити до порушення сигнальних каскадів у клітинах та розвитку патологічних станів.

Ключові слова: протеїнкіаза SNARK, наночастки срібла, легені, печінка, мозок, нирки, щури

Більшість основних фізіологічних та метаболічних процесів в організмі контролюються мережею регуляторних факторів, яка включає велике число протеїнкіаз, протеїнфосфатаз та транскрипційних факторів [1–6]. Ці фактори є ключовими регуляторами метаболізму як в нормі, так і при різноманітних патологічних станах, причому є ціла група факторів, що відповідають за циклічність протікання метаболічних процесів в організмі, в тому числі і за широкодіальні ритми різноманітних процесів [4, 7]. Порушення в регуляції експресії регуляторних факторів виявлені при ряді захворювань і можуть бути причетні також до виникнення та прогресії злокісніх пухлин [8–15].

Протеїнкіаза SNARK (SNF1/AMP-активуєма протеїнкіаза) є представником AMPK кіназ, що відносяться до серин/треонінових протеїнкіаз [16]. Відомо, що активність протеїнкіази SNARK змінюється при різноманітних стресових станах клітин, але в усіх типах клітин, суттєво залежить від концентрації глукози і глютаміну в клітинах, при цьому участь в індукованій CD95 рухливості та проліферативності [16, 17]. Миші, нокаутні по протеїнкіазі SNARK, характеризуються ожирінням, відповідними порушеннями метаболізму

і мають склонність до виникнення злокісніх пухлин поднівно до тварин, нокаутних по циркаціальним генам [2, 11, 12, 18].

У SNARK(+/−) мишій з ожирінням під впливом тривалої дії (протягом 28 тижнів) хімічного канцерогена азометану значно частіше виникали пухлини товстого кишечнику порівняно з контрольними мишами з нормальнюю функцією гена SNARK. Відомо, що ожиріння є одним із факторів риску виникнення пухлин товстого кишечнику та прямої киші, причому і у SNARK(+/−) мишій була виявлена кореляція між вагою тіла і частотою виникнення пухлин, хоча пухлини товстого кишечнику виникали і у тварин без ожиріння [18]. Більше того, було показано, що дефіцит протеїнкіази SNARK є причетним і до ранніх стадій утворення пухлин, оскільки навіть короткотривала (протягом двох тижнів) дія азометану посилює частіше виникнення пухлин товстого кишечнику у SNARK(+/−) мишій [18].

Раніше нами було показано, що експресія протеїнкіази SNARK є чутливим маркером до дії екологічно токсичних речовин, зокрема метил-третбутилового ефіру [19]. Дані літератури свідчать, що токсичними є і наночастки срібла, які поряд з іншими наноматеріалами

знаходять застосування і у медицині, причому їх токсичність є більшою, порівняно з макроскопічними дисперсіями срібла, що можливо пов'язано з їх фізико-хімічними характеристиками, здатністю наночасток безперешкодно проникати через біологічні бар'єри організму [20 - 26]. Дослідження токсичності наночасток срібла, які були проведені на ембріонах Смугастого Даніо, показали, що наночастки срібла в концентрації 5 pg/ml призводили до зростання загибелі ембріонів, виникнення серцевих та інших вроджених вад [24]. Деякі автори вважають, що наночастки срібла є довгостроковим джерелом іонів срібла, з чим пов'язують небезпеку їх шкідливого впливу на довкілля [27]. Специфічним і потенційно менш небезпечним чинником є аерозоль матричного натрію хлориду, який включає власне наночастки срібла (до 30%). При різних технологічних операціях концентрація аерозолю коливається, але 98% матричного пилу належить до респірабельної фракції, тобто існує реальна можливість надходження певної кількості наночасток срібла в організм інгаляційним шляхом, у зв'язку з чим всебічне еколо-токсикологічне дослідження цього нового антропогенного чинника є досить актуальним. В експериментах на шурах була досліджена також інгаляційна токсичність наночасток срібла розміром 20 – 65 нм у різних концентраціях ($1,73 \cdot 10^4$; $1,27 \cdot 10^5$ та $1,32 \cdot 10^6$ часток/см³) при витримуванні тварин у камері протягом 6 годин п'ять разів на тиждень на протязі 28 днів, але суттєвих змін у біохімічних показниках крові у цих дослідженнях не було виявлено [22].

Таким чином, наявні в літературі дані наукових досліджень переконливо свідчать про більш високу біологічну активність наночасток срібла розмірами порівняно з металевим сріблом.

Метою даного дослідження було вивчення можливих молекулярних механізмів впливу наночасток срібла, нового антропогенного чинника, на живі органи на рівні експресії гена SNF1/AMP-активуюмої протеїнкінази (SNARK), що є представником AMPK кіназ, відносяться до серин/треонінових протеїнкіназ і відіграє важливу регуляторну роль у багатьох метаболічних процесах в організмі. Для цього у печінці, легенях, головному мозку, нирках, сім'янниках та серцевому м'язі шурів досліджували експресію протеїнкінази SNARK при дії на організм наночасток срібла.

Матеріали і методи досліджень

Досліди проводили на шурах-самцях лінії Wistar, вагою 230 – 240 грамів. У дослі-

джені використовували наночастки срібла у матриці NaCl, одержані методом електронно-променевого випаровування у вакуумі в лабораторії № 84 Міжнародного центру електронно-променевих технологій Інституту електрозварювання ім. Є.О.Патона. Методом електронної мікроскопії встановили, що частки срібла мають переважно сферичну форму і розміри 28-30 нм. Наночастки срібла вводили тваринам інтратрахеально в кількості 0,05 мг/кг маси тіла одноразово і досліджували експресію протеїнкінази SNARK у різних органах шурів через 1, 3 або 14 днів.

Виділення РНК. Тотальні РНК виділяли із печінки, легень, нирок, головного мозку, сім'янників та серця шурів з допомогою реагенту Trizol (Trizol; Invitrogen, USA) згідно протоколу виробника, як описано раніше [35]. Осаджували РНК рівним об'ємом 2-пропанолу. Осади РНК промивали двічі 75 % етанолом і розчиняли у воді, що не містить домішок рибонуклеаз.

Аналіз експресії мРНК протеїнкінази SNARK. Експресію мРНК протеїнкінази SNARK досліджували методом полімеразної ланцюгової реакції кДНК, отриманих шляхом зворотної транскрипції РНК, а також методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. Для зворотної транскрипції використовували РНК із різних органів шурів як матрицю для синтезу кДНК, оліго(dT) праймер та SuperScript II зворотну транскриптазу (SuperScript II Reverse Transcriptase, Invitrogen, США) і реакцію проводили згідно протоколу виробника. Для ампліфікації кДНК протеїнкінази SNARK використовували HotStarTaq Master Mix Kit (QIAGEN, Німеччина) та специфічні для цих генів шура пари праймерів. Для ампліфікації кДНК протеїнкінази SNARK були використані прямий (5'-AAGTCTCGGCAGCGTGAATC -3') та зворотний (5'- CAGGATGCTGTCCCTCACTCA -3') праймери. Нуклеотидні залишки цих праймерів відповідають залишкам нуклеотидів 1544 – 1564 та 1737 – 1718 у послідовності мРНК протеїнкінази SNARK шура (GenBank номер NM_001007617). Ці пари праймерів були використані для ампліфікації протеїнкінази SNARK також і в кількісній полімеразній реакції (у реальному часі). Для контролю кількості аналізуемої РНК досліджували експресію мРНК β-актину. Експресія кожної смуги кДНК протеїнкінази SNARK порівнювалася з експресією кДНК β-актину.

Продукти ампліфікації аналізували електрофорезом в 2% агарозному гелі, забарвлюю-

частки срібла у електронному вакуумі в центру Інституту Патона. Методом встановили, що частотичну форму і срібла вводили кількості 0,05 мг/спідкували екс-у різних органах

мРНК виділяли головного мозку, допомогою реації (USA) згідно раніше [35]. Експериментом 2-пропано-75 % етанолом під домішкою ри-

к протейніази протейніази полімеразної рівняннях шляхом а також методом експресії ДНК та транскрипції різних органів шур-ДНК, оліго(dT) зворотну транс-Transcriptase, проводили згідно специфікації КДНК та користувалися QIAGEN, Німеч-геннів шура пари «ДНК протейніази прямий (5'-TC -3') та зворотна GTCCCTCACTCA залишки цих шукам нуклеотидів у поєднаності шура (GenBank пари праймерів якій протейніази полімеразний контролю кіль-кували експресії кожній смуги порівнювалася з

нанізували елек-ті, забарвлю-

кДНК бромистим етидіем. Аналіз результатів кількісної полімеразної ланцюгової реакції виконували за допомогою спеціальної комп'ютерної програми „Differential expression calculator”, а статистичну обробку результатів в Excel програмі. Різницю між двома середніми величинами вважали достовірною при значені $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Порушення регуляції та протікання метаболічних процесів в організмі є одною із причин виникнення ряду патологічних процесів, в тому числі і злюкісних новоутворень. В зв'язку з тим, що важливими регуляторами цих процесів в нормі та при патологічних станах є транскрипційні фактори та ключові ферменти обміну речовин, активність яких залежить під контролем протейніаз, ми провели дослідження експресії мРНК протейніази SNARK у різних життєво важливих органах шурів в нормі та за умов інгаляційного впливу на тварин наночасток срібла методами зворотної транскрипції мРНК та полімеразної ланцюгової реакції. Результати проведених нами досліджень показали, що експресія мРНК протейніази SNARK по даним електрофоретичного аналізу продуктів ампліфікації комплементарних ДНК суттєво посилюється у печінці та легенях шурів уже через один день після введення шурам наночасток срібла (рисунок 1). Більше того, встановлено, що посилюючий ефект наночасток срібла на експресію мРНК протейніази SNARK виявляється також як через три, так і через 14 днів у печінці та легенях шурів.

На рисунку 2 представлені дані аналізу експресії мРНК протейніази SNARK за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції (у реальному часі) у печінці та легенях контролючих шурів, та тварин, яким вводили наночастки срібла. Так, найбільш виражені зміни в експресії мРНК даної протейніази виявлені через три дні після введення шурам наночасток срібла у печінці (у 2,4 рази), а у легенях – через один день (у 2,1 рази), дещо знижуючись на 14-й день. Отримані результати свідчать про органні особливості змін в експресії мРНК протейніази SNARK під впливом наночасток срібла.

Як видно із даних, представлених на рисунку 3, у головному мозку та сім'янках також виявляється посилення експресії мРНК протейніази SNARK при дії на організм наночасток срібла, але у сім'янках в значно меншій мірі порівняно з головним мозком. Аналіз впливу наночасток срібла на експресію мРНК

протейніази SNARK у головному мозку та сім'янках шурів за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції показав, що у головному мозку уже через один день після введення тваринам наночасток срібла спостерігається суттєве посилення експресії мРНК протейніази SNARK (в 1,7 рази) (рисунок 4). На третій та 14-й день дії наночасток срібла експресія мРНК даної протейніази у головному мозку була збільшено у 2,2 та 2,0 рази, відповідно. У той же час, у сім'янках посилення експресії мРНК протейніази SNARK (в 1,4 рази) було виявлено лише на третій день дії наночасток срібла (рисунок 4).

Вивчення експресії мРНК протейніази SNARK у нирках та міокарді показало, що у цих органах під впливом наночасток срібла спостерігаються менш виражені зміни експресії даної протейніази (рисунок 5), порівняно з тими, що були виявлені у печінці, легенях та головному мозку. Встановлено, що експресія мРНК протейніази SNARK суттєво посилюється (у 1,5 рази) у нирках через три та 14 днів після введення в організм шурів наночасток срібла, а через один день зміни в експресії мРНК протейніази SNARK були значно меншими (рисунок 6). У той же час, у міокарді суттєвих змін в експресії мРНК протейніази SNARK не виявлено як через один, так і через 14 днів після введення в організм шурів наночасток срібла, а на третій день спостерігалося відносно невелике збільшення експресії мРНК даного ферменту (на 43 %).

Таким чином, проведеними дослідженнями встановлено, що експресія гена протейніази SNARK суттєво змінюється в клітинах ряду надзвичайно важливих органів шурів під впливом наночасток срібла та виявлено органні особливості змін експресії мРНК протейніази SNARK.

Результати даної роботи переконливо свідчать про виражену дію наночасток срібла на експресію гена надзвичайно важливої протейніази у таких життєво важливих органах як печінка, легені та головний мозок, а також про менш виражений вплив на нирки, сім'янки та серце, що може приводити до поширення сигнальних каскадів в клітинах певних органів та розвитку патологічних станів. Отримані результати вказують на те, що наночастки срібла можуть порушувати метаболізм в клітинах організму впливаючи на центральні ланцюги системи регуляції обміну речовин, змінюючи експресію протейніаз, які контролюють протікання важливих метаболічних процесів в організмі.

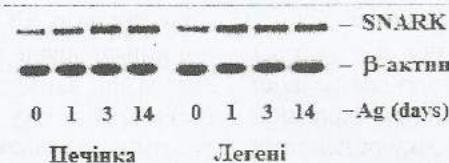


Рис. 1. Вплив наночасток срібла протягом 1, 3 та 14 днів на експресію мРНК SNF1/AMP-активуюемої протеїнкінази (SNARK) у печінці та легенях щурів методом полімеразної ланцюгової реакції комплементарних ДНК, отриманих зворотною транскрипцією РНК. 0 – контрольні тварини. Для контролю кількості аналізуемої РНК з печінки та легень щурів досліджували експресію мРНК β-актину.

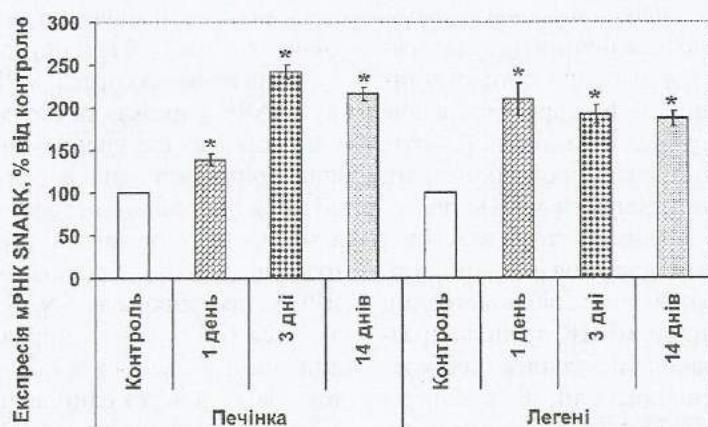


Рис. 2. Експресія мРНК протеїнкінази SNARK у печінці та легенях щурів методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції у контрольних шурів та тварин, яким вводили наночастки срібла, дію яких досліджували через 1, 3 та 14 днів. Експресію мРНК протеїнкінази SNARK нормалізували по β-актину і виражали у відсотках від контролю, прийнятого за 100 %. * - $P < 0,05$.

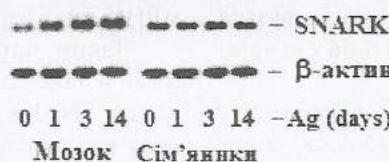


Рис. 3. Вплив наночасток срібла протягом 1, 3 та 14 днів на експресію мРНК протеїнкінази SNARK у головному мозку та сім'янках щурів методом полімеразної ланцюгової реакції қДНК. 0 – контрольні тварини. Експресію мРНК β-актину досліджували для контролю кількості аналізуемої РНК з головного мозку та сім'янників щурів.

Ці принципово нові дані щодо впливу наночасток срібла на організм на рівні експресії генів ключових регуляторних ферментів є фундаментом подальших наукових досліджень молекулярних механізмів токсичної дії наночасток срібла та ряду інших екологічно небезпечних сполук, а також пошуку шляхів нейтралізації їх негативних впливів на організм. Проведені нами дослідження є важливим внеском в молекулярну медицину, оскільки вони розкривають молекулярні основи дії на організм нанотехнологічних матеріалів, їх можливість екологічну небезпеку на рівні регуляції ме-

таболічних процесів і будуть сприяти розробці принципово нових молекулярних підходів до їх виявлення та профілактики.

Висновки.

1. Встановлено, що під впливом наночасток срібла суттєво змінюється експресія гена протеїнкінази SNARK в таких надзвичайно важливих органах, як легені, печінка та головний мозок.

2. В нирках, сім'янках та міокарді щурів під впливом наночасток срібла виявлено менш виражені зміни в експресії мРНК протеїнкін-

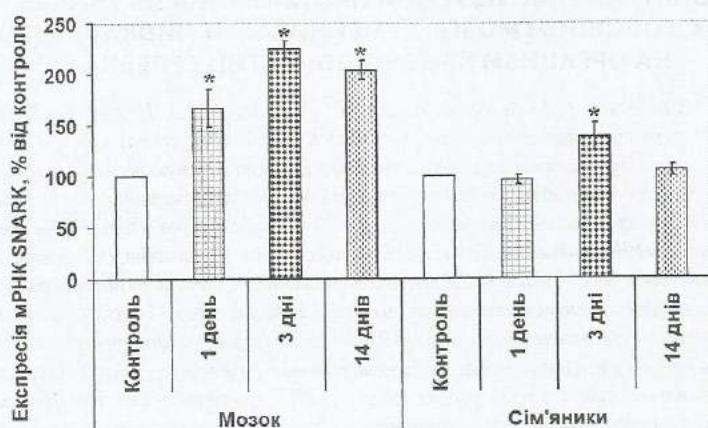


Рис. 4. Експресія мРНК протеїнкінази SNARK методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції у головному мозку та сім'яниках контрольних шурів та тварин, яким вводили наночастки срібла, дію яких послідували через 1, 3 та 14 днів. Експресію мРНК протеїнкінази SNARK нормалізували по β -актину і виражали у відсотках від контролю, прийнятого за 100 %. * - $P < 0,05$.

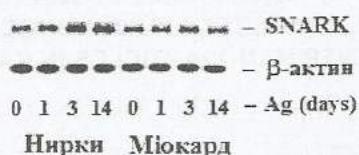


Рис. 5. Вплив наночасток срібла протягом 1, 3 та 14 днів на експресію мРНК протеїнкінази SNARK у нирках та міокарді шурів методом полімеразної ланцюгової реакції кДНК. 0 – контрольні тварини. Експресію мРНК β -актину досліджували для контролю кількості аналізуемої РНК з нирок та міокарду.

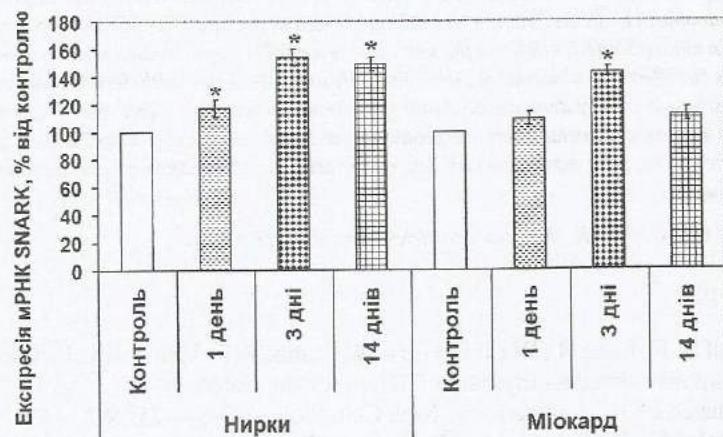


Рис. 6. Експресія мРНК протеїнкінази SNARK у нирках та міокарді шурів методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції у шурів через 1, 3 та 14 днів після введення наночасток срібла. Експресію мРНК протеїнкінази SNARK нормалізували по β -актину і виражали у відсотках від контролю, прийнятого за 100 %. * - $P < 0,05$.

зі SNARK, порівняно з легенями, печінкою та повним мозком.

3. Зміни в експресії протеїнкінази SNARK, що контролює протікання багатьох метаболічних процесів в організмі, можуть приводити до

порушення їх регуляції і сприяти розвитку патологічних станів.

4. Експресія протеїнкінази SNARK може слугувати важливим чутливим показником впливу на організм наноматеріалів та їх екологічної небезпеки.

ЭКСПРЕССІЯ SNF1/AMP-АКТИВУЕМОЇ ПРОТЕІНКІНАЗЫ (SNARK) В ПЕЧЕНИ, ЛЕГКИХ, ПОЧКАХ, ГОЛОВНОМ МОЗГЕ, СЕМЕННИКАХ И МИОКАРДЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНІЗМ КРЫС НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Минченко Д.А., Зинченко Т.А., Яворовский А.П., Тsuchihara K., Есуми Г., Минченко А.Г.
Резюме. SNF1/AMP-активируемая протеинкиназа (SNARK) является представителем AMPK киназ, которые относятся к серин/треониновым протеинкиназам и играют важную регуляторную роль во многих метаболических процессах в организме, поскольку она задействована в регуляции экспрессии и активности ряда ключевых транскрипционных факторов и отухолевых супрессоров. Полученные нами данные показали, что экспрессия мРНК протеинкиназы SNARK существенно усиливается в головном мозге, легких, печени и почках крыс уже через сутки после введения животным наночастиц серебра. Этот эффект наночастиц серебра обнаруживается также как через три, так и через 14 дней. Наиболее выраженные изменения в экспрессии мРНК протеинкиназы SNARK наблюдались через три дня после введения наночастиц серебра на организм крыс в головном мозге, печени и почках, а в легких – через один день. В семенниках и миокарде также выявляется усиление экспрессии мРНК протеинкиназы SNARK при действии на организм наночастиц серебра, но в значительно меньшей степени в сравнении с головным мозгом и только через три дня. Результаты данной работы свидетельствуют о возможном влиянии наночастиц серебра на важные механизмы регуляции метаболических процессов в клетках на уровне экспрессии генов ключевых протеинкиназ, в частности, протеинкиназы SNARK, что может приводить к нарушению сигнальных каскадов в клетках и развитию патологических состояний.

Ключевые слова: протеинкиназа SNARK, наночастицы серебра, легкие, печень, мозг, почки, крысы.

EXPRESSION OF SNF1/AMP-ACTIVATED PROTEIN KINASE (SNARK) IN THE LIVER, LUNGS, KIDNEY, BRAIN, TESTES AND MYOCARD: EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES IN RATS

Minchenko D.O., Zinchenko T.O., Yavorovsky O.P., Tsuchihara K., Esumi H., Minchenko O.H.

Summary. SNF1/AMP-activated protein kinase is a member of AMPK kinases which are related to serine/threonine protein kinases. The SNARK kinase plays important regulatory role in many metabolic processes in the organism because it participates in the regulation of expression and activity of some key transcription factors and tumor suppressors. We have shown that the expression of protein kinase SNARK mRNA significantly increased the brain, lung, liver and kidney in one day after treatment of rats with silver nanoparticles. However, this effect of silver nanoparticles on the expression of protein kinase SNARK mRNA was also observed in three and fourteen days. Maximal induction of protein kinase SNARK mRNA expression we observed in three days after treatment of rats with silver nanoparticles in the brain, liver and kidney, but in the lung – in one day. At the same time the expression of protein kinase SNARK mRNA in the testes and myocard is also increased after treatment of rats with silver nanoparticles but effect was observed in three days only and was significantly less as compared with brain. Results of our investigation clearly demonstrated that silver nanoparticles can affect some important regulatory mechanisms which control cell metabolism via protein kinase gene expression, in particular, protein kinase SNARK. Disturbance of this gene expression can destroy the cellular signal pathways and leads to developing of pathological processes.

Key words. Protein kinase SNARK, silver nanoparticles, lung, liver, brain, rats.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Eide E.J., Woolf M.F., Kang H., Woolf P., Hurst W., Camacho F., Vielhaber E.L., Giovanni A., Virshup D.M. Control of mammalian circadian rhythm by CKlepsilon-regulated proteasome-mediated PER2 degradation // Mol. Cell. Biol. – 2005. – 25, N 7. – P. 2795–2807.
2. Turek F.W., Joshu C., Kohsaka A., Lin E., Ivanova G., McDearmon E., Laposky A., Losee-Olson S., Easton A., Jensen D.R., Eckel R.H., Takahashi J.S., Bass J. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice // Science. – 2005. – 308, N 5724. – P. 1043–1045.
3. Oishi K., Shirai H., Ishida N. CLOCK is involved in the circadian transactivation of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in mice // Biochem. J. – 2005. – 386, PT 3. – P. 575–581.
4. Rudic R.D., McNamara P., Curtis A.M., Boston R.C., Panda S., Hogenesch J.B., Fitzgerald G.A. BMAL1 and CLOCK, two essential components of the circadian clock, are involved in glucose homeostasis // PLoS Biol. – 2004. – 2, N 11. – P. E377.
5. Hogenesch J.B., Gu Y.Z., Jain S., Bradfield C.A. The basic-helix-loop-helix-PAS orphan MOP3 forms transcriptionally active complexes with circadian and hypoxia factors // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1998. – 95, N 10. – P. 5474-5479.

6. Gekakis N., Staknis D., Nguyen H.B., Davis F.C., Wilsbacher L.D., King D.P., Takahashi J.S., Weitz C.J. Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism // *Science*. – 1998. – 280, N 5369. – P. 1564–1569.
7. Tsinkalovsky O., Smaaland R., Rosenlund B., Sothern R.B., Hirt A., Steine S., Badiee A., Abrahamsen J.F., Eiken H.G., Laerum O.D. Circadian variations in clock gene expression of human bone marrow CD34+ cells // *J. Biol. Rhythms*. – 2007. – 22, N 2. – P. 140–150.
8. You S., Wood P.A., Xiong Y., Kobayashi M., Du-Quiton J., Hrushesky W.J. Daily coordination of cancer growth and circadian clock gene expression // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2005. – 91, N 1. – P. 47–60.
9. Chen S.T., Choo K.B., Hou M.F., Yeh K.T., Kuo S.J., Chang J.G. Dereregulated expression of the PER1, PER2 and PER3 genes in breast cancers. *Carcinogenesis*. – 2005. – 26, N 7. – P. 1241–1246.
10. Winter S.L., Bosnayan-Collins L., Pinnaduwage D., Andrulis I.L. Expression of the circadian clock genes Per1 and Per2 in sporadic and familial breast tumors // *Neoplasia*. – 2007. – 9, N 10. – P. 797–800.
11. Lee C.C. The circadian clock and tumor suppression by Mammalian period genes. *Methods Enzymol.* – 2005. – 393. – P. 852–861.
12. Fu L., Pelicano H., Liu J., Huang P., Lee C. The circadian gene Period2 plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo // *Cell*. – 2002. – 111, N 1. – P. 41–50.
13. Yeh K.T., Yang M.Y., Liu T.C., Chen J.C., Chan W.L., Lin S.F., Chang J.G. Abnormal expression of period 1 (PER1) in endometrial carcinoma // *J. Pathol.* – 2005. – 206, N 1. – P. 111–120.
14. Shih H.C., Choo K.B., Chang T.J., Yang M.Y., Shih M.C., Yeh K.T., Liu T.C., Lin S.F., Chang J.G. Disturbance of circadian gene expression in endometrial cancer: detection by real-time quantitative RT-PCR // *Oncol. Rep.* – 2005. – 14, N 6. – P. 1533–1538.
15. Gery S., Gombart A.F., Yi W.S., Koeffler C., Hofmann W.K., Koeffler H.P. Transcription profiling of C/EBP targets identifies Per2 as a gene implicated in myeloid leukaemia // *Blood*. – 2005. – 106, N 8. – P. 2827–2836.
16. Legembre P., Schickel R., Barnhart B.C., Peter M.E. Identification of SNF1/AMP kinase-related kinase as an NF-kappaB-regulated anti-apoptotic kinase involved in CD95-induced motility and invasiveness // *J. Biol. Chem.* – 2004. – 279, N 45. – P. 46742–46747.
17. Lefebvre D.L., Rosen C.F. Regulation of SNARK activity in response to cellular stresses // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2005. – 1724, N 1–2. – P. 71–85.
18. Tsuchihara K., Ogura T., Fujioka R., Fujii S., Kuga W., Saito M., Ochiya T., Ochiai A., Esumi H. Susceptibility of Snark-deficient mice to azoxymethane-induced colorectal tumorigenesis and the formation of aberrant crypt foci // *Cancer Sci.* – 2008. – 99, N 4. – P. 677–682.
19. Мінченко О.Г., Мінченко Д.О., Яворовський О.П., Завгородній І.В., Паустовський Ю.О., Токігара К., Есумі Г. Експресія казеїнкінази-1 та SNARK в печінці, легенях та міокарді як поширення впливу метил-третбутилового ефіру на організм лабораторних тварин // Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О.Богомольця. – 2008. – № 2-3. – С. 21–27.
20. Мовчан Б.А. Электронно-лучевая нанотехнология и новые материалы в медицине – первые шаги // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – № 12 – С. 5 – 13.
21. Москаленко В.Ф., Розенфельд Л.Г., Мовчан Б. О., Чекман І.С. Нанотехнології, наномедицина, нанофармакологія: стан, перспективи наукових досліджень, впровадження в медичну практику // Національний конгрес «Человек и лекарство – Украина». – Київ, 2008. – С. 167 – 178.
22. Ji J.H., Jung J.H., Kim S.S., Yoon J.U., Park J.D., Choi B.S., Chung Y.H., Kwon I.H., Jeong J., Han S.S., Shin J.H., Sung J.H., Song K.S., Yu I.J. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats // *Inhalation Toxicology*. – 2007. – 19, N 10. – P. 857 – 871.
23. Chen D., Xi T., Bai J. Biological effects induced by nanosilver particles: in vivo study // *Biomed. Mater.* – 2007. – 2, N 3. – P. S126 – S128.
24. Griffitt R.J., Hyndman K., Denslow N.D., Barber D.S. Comparison of Molecular and Histological Changes in Zebrafish Gills Exposed to Metallic Nanoparticles // *Toxicological Sciences*. – 2009. – 107, N 2. – P. 404 – 415.
25. Benn T.M., Westerhoff P. Nanoparticle silver released into water from commercially available socks // *Environmental Science & Technology*. – 2008. – 42, N 11. – P. 4133 – 4139.
26. Lubick N. Nanosilver toxicity: ions, nanoparticles or both? // *Environ. Sci. Technol.* – 2008. – 42, N 23. – P. 8617.
27. Sahoo S.K., Parveen S., Panda J.J. The present and future of nanotechnology in human health care // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. – 2007. – 3, N 1. – P. 20 – 31.
28. Minchenko O.H., Opentanova I.L., Minchenko D.O., Ogura T., Esumi H. Hypoxia induces transcription of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 4 gene via hypoxia-inducible factor-1alpha activation // *FEBS Lett.* – 2004. – 576, N 1. – P. 14 – 20.