

УДК: 577.1:620.3:546.66:616.36

## Структурно-функціональні показники ізольованих гепатоцитів щурів у присутності наночастинок на основі європію та гадолінію

С.М.Охріменко, Г.В.Ганусова, К.В.Сєдова, Д.І.Арістова, Т.Є.Сіренко, А.Ю.Гришкова,  
Д.В.Круговий, А.К.Павлій

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна (Харків, Україна)  
s.okhrimenko@karazin.ua*

Досліджено вплив наночастинок на основі європію та гадолінію  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$  на показники про-антиоксидантного балансу та активність низки ферментів ізольованих гепатоцитів щурів. Актуальність роботи пов'язана з дослідженнями, що спрямовані на вивчення механізмів взаємодії наночастинок з компонентами клітин біологічних об'єктів. Для корекції деяких метаболічних порушень перспективними є редоксактивні наночастки на основі рідкоземельних металів. Одними з них є наночастки на основі європію та гадолінію  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$ . Ці наночастки мають сферичну форму, заряд, здатні надходити до клітин, є редоксактивними. Однак, невідомо, з якими молекулами та надмолекулярними комплексами вони можуть взаємодіяти та через це впливати на метаболізм. Метою даної роботи було вивчення показників про-антиоксидантного балансу, активності ферментів обміну глутатіону, а також активності деяких ферментів азотного обміну гепатоцитів щурів у присутності наночастинок на основі європію та гадолінію  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$ . Гепатоцити інкубували з наночастками протягом 2 та 14 годин, потім спричинювали їх лізис і в лізатах визначали показники ПОЛ, активність каталази та ферментів обміну глутатіону, вміст SH-груп, активність ферментів азотного обміну – аланін-, аспартат-, тирозинамінотрансфераз та аргінази. У середовищі інкубації визначали активність ЛДГ та амінотрансфераз як маркерів пошкодження мембран. Встановлено, що інкубація з наночастками не спричинювала посилення ПОЛ та пошкодження плазматичних мембран гепатоцитів. Виявлено вплив даних наночастинок на вміст тіолових груп та активність ферментів обміну глутатіону, що може свідчити про їх здатність впливати на стан глутатіонової ланки системи антиоксидантного захисту. Інкубація гепатоцитів з наночастками практично не впливала на активність ферментів азотного метаболізму, що є свідченням локальної дії наночастинок на основі європію та гадолінію  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$  у клітинах.

**Ключові слова:** *наночастки, європій, гадоліній, ТБК-реагуючі продукти, тіоли, глутатіонтрансфераза, глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза, гепатоцити.*

## Structural and functional indices of isolated hepatocytes of rats in the presence of nanoparticles based on europium and gadolinium

S.M.Okhrimenko, G.V.Ganusova, K.V.Sedova, D.I.Aristova, T.E.Sirenko, A.Yu.Grishkova,  
D.V.Krugovoy, A.K.Pavliy

The effect of nanoparticles based on europium and gadolinium  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$  on the pro-antioxidant balance and the activity of a number of enzymes of isolated rat hepatocytes was studied. The relevance of the work is connected with research aimed at studying the mechanisms of interaction of nanoparticles with components of cells of biological objects. To correct some metabolic disturbances, redox-active nanoparticles based on rare-earth metals are promising. Some of them are nanoparticles based on europium and gadolinium  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$ . These nanoparticles have a spherical shape, a charge, can penetrate into cells, are redoxactive. However, it is not known with which molecules and supramolecular complexes they can interact and through this affect metabolism. The purpose of this study was to study the pro-antioxidant balance, the activity of glutathione metabolism enzymes, as well as the activity of some enzymes of rat hepatocyte nitrogen exchange in the presence of europium-based gadolinium and gadolinium  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$ . Hepatocytes were incubated with nanoparticles for 2 and 14 hours, then lysed, and in lysates, LPO parameters, catalase and enzyme metabolism of glutathione, SH group content, activity of nitrogen exchange enzymes – alanine-, aspartate-, tyrosine aminotransferases and arginase were determined. In the incubation medium, the activity of LDH and aminotransferases as markers of membrane damage was determined. It was established that incubation with nanoparticles did not cause LPO enhancement and damage of plasma membranes of hepatocytes. The effect of these nanoparticles on the content of thiol groups and the activity of glutathione metabolism enzymes has been revealed, which may indicate their ability to influence the state of the glutathione unit of the antioxidant defense system. The incubation of hepatocytes with nanoparticles had practically no effect on the activity of the enzymes of nitrogen metabolism, which is evidence of the local action of nanoparticles based on europium and gadolinium  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$  in cells.

**Key words:** *nanoparticles, europium, gadolinium, TBA-reacting products, thiols, glutathione transferase, glutathione reductase, glutathione peroxidase, hepatocytes.*

**Структурно-функціональні показники ізольованих гепатоцитів крис в присутності наночастиць на основі європія та гадолінія****С.М.Охрименко, Г.В.Ганусова, К.В.Седова, Д.И.Аристова, Т.Е.Сиренко, А.Ю.Гришкова, Д.В.Круговой, А.К.Павлій**

Исследовано влияние наночастиц на основе европия и гадолиния  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$  на показатели про-антиоксидантного баланса и активность ряда ферментов изолированных гепатоцитов крыс. Актуальность работы связана с исследованиями, направленными на изучение механизмов взаимодействия наночастиц с компонентами клеток биологических объектов. Для коррекции некоторых метаболических нарушений перспективными являются редоксактивные наночастицы на основе редкоземельных металлов. Одними из них являются наночастицы на основе европия и гадолиния  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$ . Эти наночастицы имеют сферическую форму, заряд, могут проникать в клетки, являются редоксактивными. Однако, неизвестно, с какими молекулами и надмолекулярными комплексами они могут взаимодействовать и через это влиять на метаболизм. Целью данной работы было изучение показателей про-антиоксидантного баланса, активности ферментов обмена глутатиона, а также активности некоторых ферментов азотного обмена гепатоцитов крыс в присутствии наночастиц на основе европия и гадолиния  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$ . Гепатоциты инкубировали с наночастицами в течение 2 и 14 часов, затем лизировали их и в лизатах определяли показатели ПОЛ, активность каталазы и ферментов обмена глутатиона, содержание SH-групп, активность ферментов азотного обмена – аламин-, аспарат-, тирозинаминотрансфераз и аргиназы. В среде инкубации определяли активность ЛДГ и аминотрансфераз как маркеров повреждения мембран. Установлено, что инкубация с наночастицами не вызывала усиления ПОЛ и повреждения плазматических мембран гепатоцитов. Выявлено влияние данных наночастиц на содержание тиоловых групп и активность ферментов обмена глутатиона, что может свидетельствовать об их способности влиять на состояние глутатионового звена системы антиоксидантной защиты. Инкубация гепатоцитов с наночастицами практически не влияла на активность ферментов азотного метаболизма, что является свидетельством локального действия наночастиц на основе европия и гадолиния  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$  в клетках.

**Ключевые слова:** наночастицы, европий, гадолиний, ТБК-реагирующие продукты, тиолы, глутатионтрансфераза, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза, гепатоциты.

**Вступ**

В останні роки спостерігається значний зріст досліджень, технологій та продукції наночастинок. В біологічних та медичних дослідженнях активно впроваджують використання нанотехнологій, заснованих на таких властивостях наночастинок, як флуоресценція, люмінесценція, магнітні та інші (Ferrari, 2005; Kaur, Badea, 2013; Ho et al., 2015). Зокрема, розвиток досліджень неорганічних люмінесцентних наночастинок, з їх високою фотостабільністю дає унікальну можливість біологам використовувати їх для експериментів *in vitro* або *in vivo* (Michalet et al., 2005; Klochkov et al. 2013; Goltsev et al., 2013). Однак, є дані літератури, що свідчать про потенційний ризик наночастинок для здоров'я людини (Piao, 2011; Maunard et al., 2006, Nel et al., 2006, El-Ansary, Al-Daihan, 2009; Fadeel, Garsia-Bennett, 2010).

У зв'язку з цим актуальними є дослідження, спрямовані на вивчення механізмів взаємодії наночастинок з компонентами клітин біологічних об'єктів. Перспективними для корекції деяких метаболічних порушень вважають редоксактивні наночастишки на основі рідкоземельних елементів. Одними з них є наночастишки на основі європію та гадолінію  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$ , для яких показана здатність надходити у клітини (Аверченко, 2016; Klochkov et al., 2013, 2016; Kavok et al., 2014). Однак, невідомо, з якими молекулами та надмолекулярними комплексами вони можуть взаємодіяти та через це впливати на метаболізм. Дані літератури свідчать, що редоксактивні наночастишки здатні впливати на стан про-антиоксидантної системи клітин та тканин, а також на активність ферментів різних метаболічних шляхів (Unfried et al., 2007; Klochkov et al., 2012; Avarchenko et al., 2015; Klochkov et al., 2010). Однією з важливих частин ензиматичної антиоксидантної системи є ферменти обміну глутатіону. Дані літератури щодо впливу наночастинок на основі європію та гадолінію  $GdVO_4Eu^{3+(-)}$  на глутатіонову ланку антиоксидантного захисту суперечливі та розрізнені.

Виходячи з вищесказаного, метою даної роботи було вивчення показників про-антиоксидантного балансу, активності ферментів обміну глутатіону, а також активності деяких ферментів азотного обміну гепатоцитів щурів у присутності наночастинок на основі європію та гадолінію  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$ .

### Об'єкти та методи дослідження

Для дослідження використовували гепатоцити безпородних самок щурів масою 160–180 г. Гепатоцити були ізолювані за допомогою неферментативного диспергування печінки. Печінку виділяли та переносили у стерильну охолоджену до 4°C чашку Петрі, заливали охолодженим середовищем McCoу 5A Medium, подрібнювали на фрагменти 2–3 мм та продавлювали через нейлоновий фільтр фірми BDFalcon з діаметром пор 40  $\mu\text{m}$  у потоці охолодженого середовища McCoу 5A Medium у конічну пробірку об'ємом 50 мл. Отриману суспензію клітин центрифугували на Thermo Scientific Duraforce при 70 g протягом 5 хвилин для того, щоб відділити гепатоцити від фрагментів тканини. Після цього суспензію клітин знову піддавали обробці на центрифугу при 150 g протягом 5 хвилин. Концентрацію клітин та їх життєздатність визначали у автоматичному цитометрі InvitrogenCountess з використанням вітального барвника трипанового синього. Концентрація клітин в отриманій суспензії складала  $(1,5\text{--}2,2)\times 10^6$  клітин/мл. Життєздатність складала 81–89 %, доля еритроцитів була 4–6 %. Гепатоцити інкубували при +37°C в культуральному середовищі McCoу 5A без додавання (контроль) або у присутності наночасток  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}(-)$  (дослідні групи). Дані наночастки мають сферичну форму, їх діаметр – 2–3 нм, за рахунок гадолінію та європію несуть позитивний заряд; зовні вони вкриті цитрат-іонами, що обумовлює їх негативний заряд. Вони виявляють оптичні властивості, комплекс фотофізичних властивостей, мають відносну нетоксичність, здатність знаходитися у колоїдному стані у водних розчинах, редоксактивність (Klochkov et al., 2013; Аверченко, 2016). Розчин наночасток з концентрацією 1 г/л додавався з розрахунку 100 мкл на мільйон клітин. Інкубація контрольних і дослідних проб проводилась протягом 2 та 14 годин, після чого клітини лізували за допомогою 1% розчину Triton X-100, який додавався з розрахунку 1 мл на 100 мл суспензії. Клітини інкубували протягом 20 хвилин при температурі 4°C та центрифугували при 13 тис. обертів за хвилину протягом 3 хвилин. Осад перерозчиняли в культуральному середовищі. У середовищі інкубації визначали активність аланін- та аспартатамінотрансфераз (АлАТ та АсАТ) та лактатдегідрогенази (ЛДГ) за допомогою стандартних тест-систем для оцінки цілісності плазматичних мембран. У лізаті гепатоцитів визначали вміст ТБК-реагуючих продуктів у реакції з тіобарбітуровою кислотою (Ohkawa et al., 1979), загальних SH-груп за допомогою реактиву Елмана за поглинанням світла 2-нітро-5-тіобензоатом при 412 нм (Северин, Соловьева, 1989), вміст білка спектрофотометрично при 280 нм (Северин, Соловьева, 1989). Активність каталази визначали спектрофотометрично при 240 нм за зменшенням концентрації перекису водню в середовищі (Murclund et al., 1981). Активність ферментів обміну глутатіону визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм: глутатіонпероксидази – за зменшенням рівня NADPH, з додаванням глутатіонредуктази; глутатіонредуктази – за зменшенням рівня NADPH; глутатіонтрансферази – за зростанням рівня 2,4-динітрохлорбензолу (ДНХБ) (Нікітченко та ін., 2008), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – за зростанням рівня NADPH (Ганусова, Каліман, 2007). У лізаті гепатоцитів також визначали активність ферментів азотного обміну: аргінази – за накопиченням сечовини за допомогою стандартної тест-системи, тирозинамінотрансферази (ТАТ) – за допомогою кольорової реакції на п-оксифенілпіруват (Schepard, 1969), АлАТ та АсАТ – як було зазначено вище. Статистичний аналіз результатів проводився за допомогою t-критерію Стьюдента у програмах Past та Excel.

### Результати та обговорення

Через 2 та 14 годин інкубації гепатоцитів з наночастками вміст ТБК-реагуючих продуктів у клітинах не змінювався порівняно з контрольними пробами (табл. 1), що може свідчити про відсутність прооксидантного ефекту наночасток на основі європію та гадолінію  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}(-)$  у застосованій нами концентрації. З цими даними узгоджуються дані про активність каталази у ці терміни – не виявлено достовірних змін активності ферменту при інкубації гепатоцитів з наночастками порівняно з контролем (табл. 1), що підтверджує відсутність накопичення активних форм кисню у присутності наночасток на основі європію та гадолінію.

Відсутність змін вмісту ТБК-реагуючих продуктів у гепатоцитах при застосуванні даних наночасток свідчить про сталість процесів ПОЛ та може відображувати структурно-функціональний стан мембран. У табл. 2 наведено дані про активність деяких ферментів гепатоцитів в інкубаційному середовищі без застосування та із застосуванням наночасток на основі європію та гадолінію  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}(-)$ . Показано, що активність ферментів – маркерів клітинного пошкодження –

амінотрансфераз та ЛДГ не змінюється в обидва досліджувані терміни порівняно з контролем, що може свідчити про відсутність впливу зазначених наночастинок на стабільність мембранних структур та їх функціонування.

Таблиця 1.

**Вміст ТБК-реагуючих продуктів та активність каталази у гепатоцитах щурів у різні терміни інкубації з наночастиками**

Показник	Контроль 2 год.	Дослід 2 год. (GdVO <sub>4</sub> :Eu <sup>3+</sup> )	Контроль 14 год.	Дослід 14 год. (GdVO <sub>4</sub> :Eu <sup>3+</sup> )
ТБК-реагуючі продукти, нмоль/мг білка	0,11 ± 0,04	0,16 ± 0,10	0,57 ± 0,23	0,45 ± 0,14
каталаза, мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /хв/мг білка	19,1 ± 6,7	46,8 ± 30,7	25,2 ± 7,5	19,4 ± 13,0
ТБК-реагуючі продукти, нмоль/10 <sup>6</sup> клітин	0,26 ± 0,12	0,28 ± 0,14	0,33 ± 0,16	0,27 ± 0,15
каталаза, мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /хв/10 <sup>6</sup> клітин	61,5 ± 20,4	69,3 ± 24,5	19,7 ± 6,5	17,9 ± 1,1

Таблиця 2.

**Активність ферментів в інкубаційному середовищі в різні терміни інкубації з наночастиками, мкмоль/год /мг білка**

Показник	Контроль 2 год.	Дослід 2 год. (GdVO <sub>4</sub> :Eu <sup>3+</sup> )	Контроль 14 год.	Дослід 14 год. (GdVO <sub>4</sub> :Eu <sup>3+</sup> )
АлАТ	4,25 ± 2,91	3,97 ± 1,98	3,99 ± 1,89	4,61 ± 1,86
АсАТ	2,37 ± 1,87	2,26 ± 1,13	2,38 ± 1,38	2,71 ± 1,45
ЛДГ	0,49 ± 0,27	0,51 ± 0,31	0,71 ± 0,13	0,75 ± 0,47

Хоча дані про вміст ТБК-реагуючих продуктів та активність каталази відображують у цілому збереження про-антиоксидантного балансу у присутності наночастинок на основі європію та гадолінію, результати дослідів свідчать про чутливість тіолових сполук до застосованих наночастинок (табл. 3). Так, встановлено зменшення вмісту загальних SH-груп у гепатоцитах через 14 годин інкубації з наночастиками, що може свідчити про їх участь у окисно-відновлювальних процесах, які як прямо, так і опосередковано можуть бути пов'язаними з редокс-активністю наночастинок GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup>(-).

Таблиця 3.

**Вміст SH-груп у гепатоцитах щурів у різні терміни інкубації з наночастиками**

Показник	Контроль 2 год.	Дослід 2 год. (GdVO <sub>4</sub> :Eu <sup>3+</sup> )	Контроль 14 год.	Дослід 14 год. (GdVO <sub>4</sub> :Eu <sup>3+</sup> )
	мкмоль/мг білка			
загальні SH-групи	0,25 ± 0,03	0,22 ± 0,04	0,2 ± 0,03	0,13 ± 0,03*
	мкмоль/10 <sup>6</sup> клітин			
загальні SH-групи	3,6 ± 0,07	2,9 ± 0,11*	2,5 ± 0,6	1,8 ± 0,6

\*  $p \leq 0,05$  відносно контролю.

Серед небілкових тіолів найпоширенішим є глутатіон, тому дослідження активності ферментів обміну глутатіону у присутності наночастинок є важливим для визначення стану глутатіонової ланки системи антиоксидантного захисту за цих умов. Показано, що інкубація

гепатоцитів щурів з наночастками  $GdVO_4:Eu^{3+}(-)$  впродовж 2 годин спричинювала підвищення активності глутатіон-S-трансферази; через 14 годин встановлено підвищення активності глутатіонпероксидази, зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, при цьому вона не впливала на активність глутатіонредуктази (табл. 4). Вплив наночасток на обмін глутатіону може бути пов'язаний зі зміною співвідношення GSH/GSSG у гепатоцитах, що призводить насамперед до активації глутатіон-S-трансферази (Averchenko et al., 2015). Глутатіонредуктазу та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу відносять до тілових ферментів і, ймовірно, їх активні центри можуть безпосередньо зв'язувати метаболіти, що мають високу спорідненість до сульфгідрильних груп та негативно впливають на активність цих ферментів.

Одержані нами дані свідчать про часткову активацію глутатіонової ланки антиоксидантної системи, що забезпечує її стабільність у присутності наночасток  $GdVO_4:Eu^{3+}(-)$ .

Таблиця 4.

**Активність ферментів обміну глутатіону у гепатоцитах щурів у різні терміни інкубації з наночастками**

Показник	Контроль 2 год.	Дослід 2 год. ( $GdVO_4:Eu^{3+}$ )	Контроль 14 год.	Дослід 14 год. ( $GdVO_4:Eu^{3+}$ )
нмоль NADPH/хв/мг білка				
Глутатіонпероксидаза	8,29 ± 2,4	9,68 ± 2,39	8,1 ± 2,22	11,04 ± 2,46
Глутатіонтрансфераза	15,37 ± 3,49	25,92 ± 8,57*	5,13 ± 1,54	7,96 ± 3,38
Глутатіонредуктаза	10,38 ± 4,57	14,52 ± 3,81	15,42 ± 5,19	15,4 ± 5,02
Глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа	1,11 ± 0,57	0,83 ± 0,41	0,50 ± 0,21	0,28 ± 0,14
нмоль NADPH/хв/10 <sup>6</sup> клітин				
Глутатіонпероксидаза	59,5 ± 17,4	77,8 ± 13,1	52,7 ± 13,7	84,3 ± 21,4*
Глутатіонтрансфераза	80,6 ± 10,8	126,5 ± 13,1*	42,8 ± 10,2	29,0 ± 9,34
Глутатіонредуктаза	1,05 ± 0,7	1,2 ± 0,42	2,21 ± 0,77	2,24 ± 0,92
Глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа	9,13 ± 4,36	6,98 ± 3,37	3,72 ± 1,05	1,92 ± 0,39*

\*  $p \leq 0,05$  відносно контролю.

Таблиця 5.

**Активність ферментів азотного обміну у гепатоцитах щурів у різні терміни інкубації з наночастками**

Показник	Контроль 2 год.	Дослід 2 год. ( $GdVO_4:Eu^{3+}$ )	Контроль 14 год.	Дослід 14 год. ( $GdVO_4:Eu^{3+}$ )
мкмоль/год/мг білка				
АлАТ	0,22 ± 0,12	0,23 ± 0,15	0,24 ± 0,11	0,24 ± 0,14
АсАТ	0,23 ± 0,11	0,24 ± 0,13	0,22 ± 0,12	0,21 ± 0,11
аргіназа	53,6 ± 7,3	38,6 ± 11,2	33,1 ± 16,3	17,7 ± 10,0
ТАТ	0,78 ± 0,15	0,51 ± 0,13*	0,42 ± 0,16	0,33 ± 0,12
мкмоль/год/10 <sup>6</sup> клітин				
АлАТ	0,25 ± 0,11	0,52 ± 0,2	0,28 ± 0,02	0,52 ± 0,18*
АсАТ	0,22 ± 0,10	0,22 ± 0,08	0,25 ± 0,15	0,09 ± 0,04
аргіназа	0,36 ± 0,02	0,30 ± 0,05	0,22 ± 0,11	0,12 ± 0,05
ТАТ	1,02 ± 0,18	0,63 ± 0,14*	0,51 ± 0,14	0,36 ± 0,12

\*  $p \leq 0,05$  відносно контролю.

Здатність наночасток на основі європію та гадолінію надходити у клітини може впливати на метаболічні процеси, що було нами встановлено при дослідженні активності ферментів азотного

обміну. Так, інкубація гепатоцитів з наночастками спричинювала зниження активності ТАТ через 2 години та підвищення активності АЛАТ через 14 годин, в той час як для АсАТ та аргінази змін не встановлено (табл. 5). Оскільки виявлена вибіркова дія наночастинок на активність досліджуваних ферментів, можна припустити, що ця дія не пов'язана із загальними шляхами регуляції активності ферментів, а має індивідуальні особливості. Причиною змін ферментативної активності може бути утворення комплексів наночастинок з ферментними білками. Так, в роботах (Салем, 2014; Салем, Шолхух, 2014) досліджено взаємодію наночастинок з аспартатамінотрансферазою, що спричинює зміни її властивостей.

Таким чином, за умов нашого експерименту наночастки  $GdVO_4:Eu^{3+(-)}$  не впливали на цілісність плазматичних мембран гепатоцитів; відсутній прооксидантний ефект наночастинок, що використовувались. Наночастки на основі європію та гадолінію спричинювали зміни вмісту вільних тиолових груп у клітинах та активність ферментів обміну глутатіону, що свідчить про їх здатність впливати на систему антиоксидантного захисту. Встановлено вплив наночастинок на активність деяких ферментів азотного метаболізму, що, ймовірно, має неспецифічну дію.

Висловлюємо подяку за наданий для дослідів матеріал співробітникам відділу нанокристалічних матеріалів Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, особисто член-кореспонденту НАНУ, доктору фіз.-мат. наук Ю.В.Малюкіну, канд. хім. наук В.К.Клочкову, а також за консультативну допомогу канд. біол. наук Ю.Г.Коту.

#### Список літератури / References

- Аверченко К.А. Механізми впливу редоксактивних наночастинок ( $ReVO_4:Eu_{3+}$  і  $SeO_{2-x}$ ) на біоенергетичні процеси в мітохондріях. Автореф. дис. ... канд. фіз.-мат. наук. – Харків, 2016. – 22с.  
/Averchenko K.A. Mechanisms of the influence of redoxactive nanoparticles ( $ReVO_4:Eu_{3+}$  and  $SeO_{2-x}$ ) on bioenergetic processes in mitochondria. Abstract of PhD theses ... phys.-math. sciences. – Kharkiv, 2016. – 22p./
- Ганусова Г.В., Каліман П.А. Активність деяких NADP-залежних дегідрогеназ та вміст цитохромів P-450 і b5 у печінці щурів при введенні хлориду ртуті // Медична хімія. – 2007. – Т.9, №2. – С. 10–13.  
/Ganusova G.V., Kaliman P.A. Activity of some NADP-dependent dehydrogenases and content of cytochromes P-450 and b5 in liver of rats at introduction of mercury chloride // Medical Chemistry. – 2007. – Vol.9, no. 2. – P. 10–13./
- Нікітченко Ю.В., Падалко В.І., Ткаченко В.М. та ін. Активність глутатіонзалежної антиоксидантної системи печінки і крові щурів залежно від опромінення та раціону харчування // Український біохімічний журнал. – 2008. – Т.80, №6. – С. 66–68. /Nikitchenko Yu.V., Padalko V.I., Tkachenko V.M. et al. Activity of glutathion-dependent antioxidant liver and blood system of rats depending on irradiation and diet // Ukrainian Biochemical Journal. – 2008. – Vol.80, no. 6. – P. 66–68./
- Салем А.Э. Взаимодействие митохондриальной аспартатаминотрансферазы с наночастицами коллоидного золота // Вестник Фонда Фундаментальных исследований. – 2014. – №3. – С. 56–62.  
/Salem A.E. Interaction of mitochondrial aspartate aminotransferase with nanoparticles of colloidal gold // Vestnik of the Fund for Fundamental Research. – 2014. – No. 3. – P. 56–62./
- Салем А.Э., Шолух М.В. Влияние наночастиц  $TiO_2$  и  $Fe_3O_4$  на термостабильность митохондриальной аспартатаминотрансферазы // Труды Белорусского государственного университета. – 2014. – Т.9, ч.1. – С. 122–128. /Salem A.E., Sholukh M.V. Influence of  $TiO_2$  and  $Fe_3O_4$  nanoparticles on the thermostability of mitochondrial aspartate aminotransferase // Proceedings of the Belarusian State University. – 2014 – Vol.9, part 1. – P. 122–128./
- Северин С.Е., Соловьёва Г.А. Практикум по биохимии. – М.: Изд-во Моск. ун-та. – 1989. – 509с.  
/Severin S.Ye., Solovyova G.A. Workshop on biochemistry. – Moscow: Publishing house of Moscow University, 1989. – 509 p./
- Averchenko K.A., Kavok N.S., Klochkov V.K. et al. Effect of inorganic nanoparticles and organic complexes on their basis on free-radical processes in some model systems // Biopolymers and Cell. – 2015. – Vol.31, no. 2. – P. 138–145.
- El-Ansary A., Al-Daihan S. On the toxicity of therapeutically used nanoparticles: an overview // J. Toxicol. – 2009. – Vol.2009: 754810.
- Fadeel B., Garsia-Bennett A.E. Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications // Adv. Drug Delivery. – 2010. – Vol.62, no. 3. – P. 362–374.
- Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges // Nat. Rev. Cancer. – 2005. – Vol.5. – P. 161–171.
- Goltsev A.N., Babenko N.N., Gayevskaya Yu.A. et al. Capability of othovanadate-based nanoparticles to in vitro identification and in vivo inhibition of cancer stem cells // Nanosystems, nanomaterials, nanotechnologies. – 2013. – Vol.11, no. 4. – P. 729–739. (In Ukrainian)

- Ho D., Wang C.-H.K., Chow E.K.-H. Nanodiamonds: The intersection of nanotechnology, drug development, and personalized medicine // *Science Advances*. – 2015. – Vol.1, no. 7. – P. 1–14.
- Kaur R., Badea I. Nanodiamonds as novel nanomaterials for biomedical applications: drug delivery and imaging systems // *International Journal of Nanomedicine*. – 2013. – Vol.8. – P. 203–220.
- Kavok N.S., Averchenko K.A., Klochkov V.K. et al. Mitochondrial potential ( $\Delta\Psi_m$ ) changes in single rat hepatocytes: The effect of orthovanadate nanoparticles doped with rare-earth elements // *The European Physical Journal E*. – 2014. – Vol.37. – P. 127–139.
- Klochkov V.K., Grygorova A.V., Sedyh O.O. et al. The influence of agglomeration of nanoparticles on their superoxide dismutase-mimetic activity // *Colloid and surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. – 2012. – Vol.409. – P. 176–182.
- Klochkov V., Kavok N., Grygorova G. et al. Size and shape influence of luminescent orthovanadate nanoparticles on their accumulation in nuclear compartments of rat hepatocytes // *Materials Science and Engineering C*. – 2013. – Vol.33 (5). – P. 2708–2712.
- Klochkov V.K., Kavok N.S., Grigorova A.V. et al. In vivo effects of rare-earth based nanoparticles on oxidative balance in rats // *Materials Science and Engineering C*. – 2016. – Vol.9, no. 6. – P. 72–81.
- Klochkov V.K., Kavok N.S., Malyukin Yu.V. The effect of a specific interaction of nanocrystals  $GdYVO_4: Eu^{3+}$  with cell nuclei // *Rep. Natl. Acad. Sci. Ukr.* – 2010. – Vol.10. – P. 81–86.
- Maynard A.D., Aitken R.J., Butz T. et al. Safe handling of nanotechnology // *Nature*. – 2006. – Vol.444, no. 7117. – P. 267–269.
- Michalet X., Pinaud F.F., Bentolila L.A. et al. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics // *Science*. – 2005. – Vol.307, no. 5709. – P. 538–544.
- Murclund S., Nordensson J., Back J. Normal Cu, Zn-superoxide dismutase, Mn-Sod, catalase and glutathione peroxidase in Werner's syndrome // *J. Gerontol.* – 1981. – Vol.36, no. 4. – P. 405–409.
- Nel A., Xia T., Madler L., Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel // *Science*. – 2006. – Vol.311. – P. 622–627.
- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for peroxides in animal tissues by thioparbituric acid reaction // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol.95, no. 2. – P. 351–358.
- Piao M.J. Silver nanoparticles induce oxidative cell damage in human liver cells through inhibition of reduced glutathione and induction of mitochondria-involved apoptosis // *Toxicology Letters*. – 2011. – Vol.201, no. 5. – P. 981–990.
- Schepard B. New method for assay of tyrosine transaminase // *Anal. Biochem.* – 1969. – Vol.30. – P. 443–448.
- Unfried K., Albrecht C., Klotz L.O. et al. Cellular responses to nanoparticles: target structures and mechanisms // *Nanotoxicology*. – 2007. – Vol.1. – P. 52–71.

**Представлено: О.А.Наконечна / Presented by: O.A.Nakonechna**

**Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky**

*Подано до редакції / Received: 02.05.2018*

**About the authors:** S.M.Okhrimenko – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, s.okhrimenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7844-618X>  
G.V.Ganusova – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, g.ganusova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-6835-468X>  
K.V.Sedova – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, kristina.sedova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6053-1100>  
D.I.Aristova – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, dar.arist@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2350-2831>  
T.E.Sirenko – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, tamarasirenko27@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0573-5888>  
A.Yu.Grishkova – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, ansygry0894@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4074-8369>  
D.V.Krugovoy – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, dekry027@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9590-0965>

A.K.Pavliy – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, akpavliy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5760-0224>

**Про авторів:** С.М.Охріменко – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, s.okhrimenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7844-618X>  
Г.В.Ганусова – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, g.ganusova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-6835-468X>  
К.В.Сєдова – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, kristina.sedova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6053-1100>  
Д.І.Арістова – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, dar.arist@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2350-2831>  
Т.Є.Сиренко – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, tamarasirenko27@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0573-5888>  
А.Ю.Гришкова – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, ansygry0894@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4074-8369>  
Д.В.Круговий – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, dekry027@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9590-0965>  
А.К.Павлій – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, akpavliy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5760-0224>

**Об авторах:** С.М.Охрименко – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, s.okhrimenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7844-618X>  
Г.В.Ганусова – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, g.ganusova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-6835-468X>  
К.В.Сєдова – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, kristina.sedova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6053-1100>  
Д.И.Аристова – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, dar.arist@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2350-2831>  
Т.Е.Сиренко – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, tamarasirenko27@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0573-5888>  
А.Ю.Гришкова – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, ansygry0894@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4074-8369>  
Д.В.Круговой – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, dekry027@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9590-0965>  
А.К.Павлий – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, akpavliy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5760-0224>