

УДК 57.083.36

Е.М. КЛИМОВА<sup>1</sup>, Е.В. ЛАВИНСКАЯ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ Ин-т общей и неотложной хирургии АМН Украины,

Въезд Балакирева, 1, 61018 Харьков, Украина

<sup>2</sup>НИИ биологии Харьковского нац. ун-та им. В.Н. Каразина,

пл. Свободы, 4, 61022 Харьков, Украина

e-mail: lavinskaya\_5@mail.ru

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA VIRIDIS* TEODOR. (*CHLOROPHYTA*) В КАЧЕСТВЕ КЛЕТОЧНОГО БИОИНДИКАТОРА

Исследовано влияние цитотоксических компонентов сыворотки крови больных с критическими состояниями (острый варикотромбоз и тромбоз глубоких вен, миастения, билиарный цирроз, панкреонекроз, ожоги) на клетки микроводоросли *Dunaliella viridis*. Ответные реакции клеток биоиндикатора свидетельствуют о наличии механизмов цитотоксического действия, затрагивающих метаболическую активность, функционирование мембранного комплекса, ионных каналов клеток. Качественные и количественные отличия реакций микроводоросли, а также концентрационная зависимость цитотоксических факторов указывают на то, что количество и природа этих факторов различны при разных критических состояниях.

Ключевые слова: цитотоксичность, биоиндикация, чувствительность, экспресс-метод.

### Введение

Патологический процесс, как и все биологические реакции, характеризуется несколькими стадиями: индукцией, развитием и стабилизацией с последующим переходом в обратимые или необратимые состояния. Для каждого патологического процесса характерны определенные изменения гомеостаза, которые хорошо известны как стадийность, распространенность, тяжесть и обратимость. Актуальным является разработка экспресс-методов диагностики, позволяющих характеризовать особенности течения патологического процесса (Сыроешкин и др., 2002; Banarjee et al., 2009).

Цитотоксические факторы сыворотки крови активно участвуют в клеточном сигналинге, могут индуцировать перестройку метаболизма клеток-мишеней, усиливать их метаболическую активность или же индуцировать их гибель. Это, в свою очередь, может оказывать непосредственное влияние на распространенность и тяжесть патологического про-

© Е.М. Климова, Е.В. Лавинская, 2012

процесса или развитие различного рода осложнений. Однако эти важные вопросы практически не исследованы. Имеются единичные публикации по этому вопросу (Климова и др., 2007; Козлов и др., 2009). Это объясняется тем, что цитотоксические факторы сыворотки крови, которые продуцируются иммунокомпетентными клетками, чрезвычайно разнообразны и содержатся в достаточно малых количествах, а получить сыворотку в количествах, необходимых для идентификации даже современными методами хроматографии, задача довольно сложная. Следовательно, не могут быть успешно изучены все цитотоксические факторы, участвующие в развитии патологического процесса (Ковальчук и др., 2008; Хаитов и др., 2009).

В различных направлениях биологии широко применяют детекторные биоиндикационные системы на основе водорослей, которые можно использовать и для скрининга потенциальной цитотоксичности веществ (Norikazu et al., 2007). Такие системы обладают высокой чувствительностью, специфичностью анализа и требуют небольшого количества исследуемого материала (Бережецкий и др., 2007; Naessens et al., 1998). Метод клеточной биоиндикации заключается в том, что оценивают изменение морфофункциональных параметров клеток микроводорослей *Dunaliella viridis* под действием сывороточных компонентов, обладающих потенциальным цитотоксическим действием (Слонская и др., 1997; Lukavsky et al., 2011).

Одноклеточные организмы являются удобным объектом биоиндикационных исследований. В первую очередь это связано с этической стороной вопроса (использование экспериментальных животных). В то же время одноклеточные организмы легко получать в необходимых для исследований количествах. Ответные реакции таких организмов легко фиксировать, что позволяет за короткий промежуток времени получать достоверные результаты по действию негативных факторов (Божков и др., 2003; Брянцева, 2005). Изменение состава среды, в которой находятся клетки, приводит к нарушению функционирования ионных каналов и активного транспорта клеток. Эти нарушения приводят к отклонениям от нормальной экспрессивной активности. В ответ на эти стрессорные воздействия может происходить выделение экзометаболитов (Божков и др., 2007).

В качестве клеточных биоиндикаторов могут быть использованы одноклеточные микроводоросли, в частности *Dunaliella* (Божков и др., 2002), лишенная клеточной стенки, что обеспечивает прямой контакт тестируемого лиганда непосредственно с клеточной мембраной. Изменение формы и подвижности клеток может зависеть не только от свойств клеток, но и от природы и концентрации определенных химических соединений в биологических средах. Следовательно, микроводоросли могут реагировать по-разному (изменением формы, утратой жгутика) на химические соединения различной природы (Климова и др., 2006).

Цель работы – оценка степени цитотоксичности сыворотки крови больных с критическими состояниями методом биоиндикации с использованием культуры *D. viridis*.

### Материалы и методы

В экспериментах использовали культуру водоросли *D. viridis*. Микроводоросли культивировали на жидкой среде Артари в известной модификации Н.П. Масюк (1973).

В работе оценивали потенциальные цитотоксические компоненты в сыворотке крови (СК) больных с острым варикотромбозом и тромбозом глубоких вен ( $n = 18$ ), с миастенией ( $n = 16$ ), билиарным циррозом ( $n = 12$ ), панкреонекрозом ( $n=9$ ), ожогами ( $n = 10$ ). Сыворотка здоровых доноров служила контрольной группой сравнения ( $n = 20$ ). В работе проведено 3 серии экспериментов.

Исследование цитотоксических факторов проводили с использованием микроводорослей *D. viridis* (Климова и др., 2010). В иммунологический планшет вносили в равных объемах исследуемую биологическую жидкость и суспензию культуры водорослей, инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре. В качестве контроля использовали культуру водорослей с физиологическим раствором (контроль 1).

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

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

$$K_{\text{СП}} = \frac{M_{\text{к}} + \Phi_{\text{к}} + A_{\text{к}}}{3}, \quad (\text{I})$$

где  $M_{\text{к}}$  – процент клеток с измененной формой в контроле;  $\Phi_{\text{к}}$  – процент клеток с измененными функциональными свойствами в контроле;  $A_{\text{к}}$  – процент агрегированных клеток в контроле.

По формуле (II) рассчитывали коэффициент индуцированной цитотоксичности для каждого вида СК:

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

где  $M_{\text{и}}$  – процент клеток с измененной формой после инкубации с определенной СК;  $\Phi_{\text{и}}$  – процент клеток с измененными функциональными свойствами после инкубации с определенной СК;  $A_{\text{и}}$  – процент агрегированных клеток после инкубации с определенной СК;  $K_{\text{СП}}$  – коэффициент спонтанной цитотоксичности контрольного образца.

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

### Результаты и обсуждение

В контрольной серии опытов после инкубации микроводорослей *D. viridis* с физиологическим раствором наблюдали спонтанные морфологические ( $3,0 \pm 0,53$  %) и функциональные ( $9,0 \pm 0,97$  %) изменения клеток биоиндикатора (рис. 1). Под действием сыворотки здоровых доноров (контрольная группа) выявили незначительное увеличение количества округлых клеток – до ( $7,0 \pm 0,53$  %), и неподвижных – до ( $11,0 \pm 0,97$  %) (см. рис. 1).

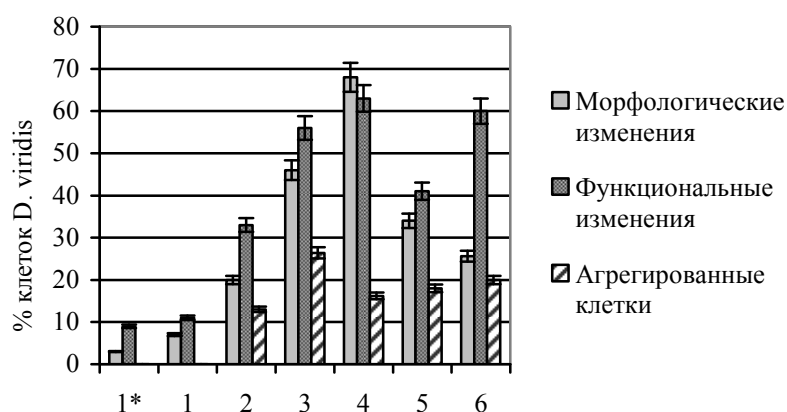


Рис. 1. Морфофункциональные изменения клеток микроводоросли *Dunaliella viridis* под действием цитотоксических компонентов СК при: 1 – контроль; 2 – остром варикотромбозе и тромбозе глубоких вен; 3 – миастении; 4 – билиарном циррозе; 5 – панкреонекрозе; 6 – ожоговой болезни; 1\* – без сыворотки

Полученные эффекты под действием СК зависели от характера патологического процесса и, очевидно, от природы цитотоксических факторов. Наименьшая индукция морфо-функциональных изменений выявлена в СК при остром варикотромбозе и тромбозе глубоких вен (в 2,9 и 3 раза соответственно по сравнению с контрольной группой).

В группе больных миастенией при значительном увеличении количества округлых (в 6,5 раза) и неподвижных клеток (в 5 раз) по сравнению с контролем выявили наибольшее количество агрегированных клеток ( $26,4 \pm 5,7$  %).

Наибольшее количество измененных клеток наблюдали в СК, полученных от больных циррозом печени (морфологические изменения увеличились в 9,7 раза, функциональные – в 5,7 раза, количество агреги-

рованных клеток составило ( $16,2 \pm 6,4$  %), при том что в контроле не выявлено образование агрегатов), что свидетельствует о наличии в сыворотке цитотоксических компонентов.

При исследовании СК больных панкреонекрозом количество морфологически измененных клеток возросло в 4,9 раза, функционально измененных – в 3,7 раза соответственно.

В группе СК с ожоговой болезнью при увеличении морфологически измененных клеток в 3,7 раза количество неподвижных клеток возросло в 5,5 раза.

Для исследования особенностей патогенеза заболеваний и опосредованного определения цитотоксических факторов различной природы с помощью клеток микроводоросли *D. viridis* провели серию экспериментов по изучению дозовой зависимости цитотоксических эффектов путем последовательных разведений сывороток крови больных с различными патологиями. В сыворотке крови доноров не наблюдали значительных изменений (на 3 % при 10-кратном разведении) количества округлых клеток (рис. 2).

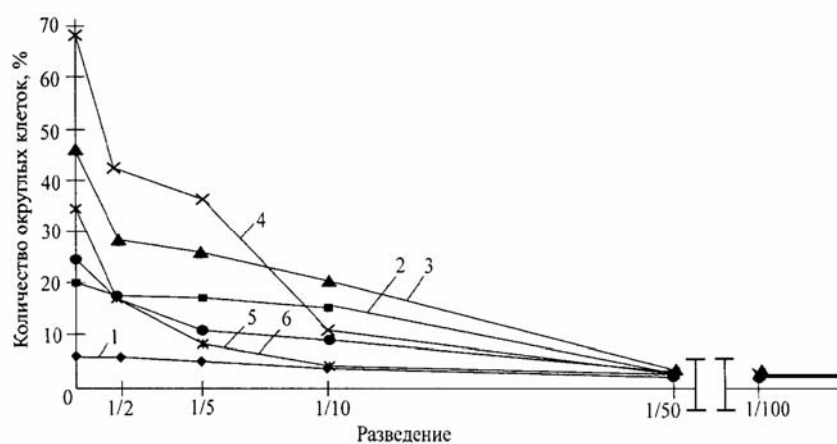


Рис. 2. Изменение морфологических нарушений одноклеточной водоросли *Dunaliella viridis* под действием СК различной степени разведения: 1 – контроль; 2 – острый варикотромбоз и тромбоз глубоких вен; 3 – миастения; 4 – билиарный цирроз; 5 – панкреонекроз; 6 – ожоговая болезнь

В СК с острыми варикотромбозами и тромбозами глубоких вен максимальное снижение количества округлых клеток (на 4 %) наблюдали при разведении сыворотки в 10 раз. При разведении сыворотки крови, богатой миастогенными факторами на фоне поражения вилочковой железы (злокачественная тимомы), наиболее выраженный цитотоксический эффект выявили после разведения СК в 2 раза (рис. 2, 3). При разведении данной СК в 10 раз количество морфологически измененных клеток биоиндикатора снизилось на 26 %. В СК больных билиарным циррозом уже при разведении в 5 раз сыворотки крови количество

морфологически измененных клеток уменьшилось на 31 % (рис. 2, 4). А при 10-кратном разведении сыворотки крови количество округлых клеток было меньше уже в 6 раз по сравнению с контролем. В СК больных панкреонекрозом также выявлено значительное уменьшение количества округлых клеток при 10-кратном разведении сыворотки (в 8,5 раз). В СК больных ожоговой болезнью при разведении сыворотки в 10 раз количество морфологически измененных клеток биоиндикатора снизилось на 14 %. При последующих разведениях СК (в 50 и 100 раз) не наблюдали значительных изменений – количество округлых клеток *D. viridis* оставалось на уровне значений контрольной группы сравнения.

При исследовании эффектов разведения СК в инкубационной смеси, содержащей клетки *D. viridis* и сыворотку крови больных с различными патологиями, выявили разнонаправленные изменения количества неподвижных клеток биоиндикатора *D. viridis* (рис. 3). Максимальное снижение количества неподвижных клеток (с 63 до 40 %) отмечено при 10-кратном разведении СК больных билиарным циррозом (рис. 3, 4). При двукратном разведении СК больных миастенией (рис. 3, 3) наблюдали незначительное увеличение количества измененных неподвижных клеток (на 3 %).

По полученным данным морфофункциональных изменений определяли средние значения коэффициентов индуцированной цитотоксичности ( $K_{ц}$ ) исследуемых СК (рис. 4). Величина коэффициента индуцированной цитотоксичности сыворотки доноров составила  $0,5 \pm 0,04$ , что свидетельствует об отсутствии цитотоксических эффектов в данной биологической среде (табл. 1).

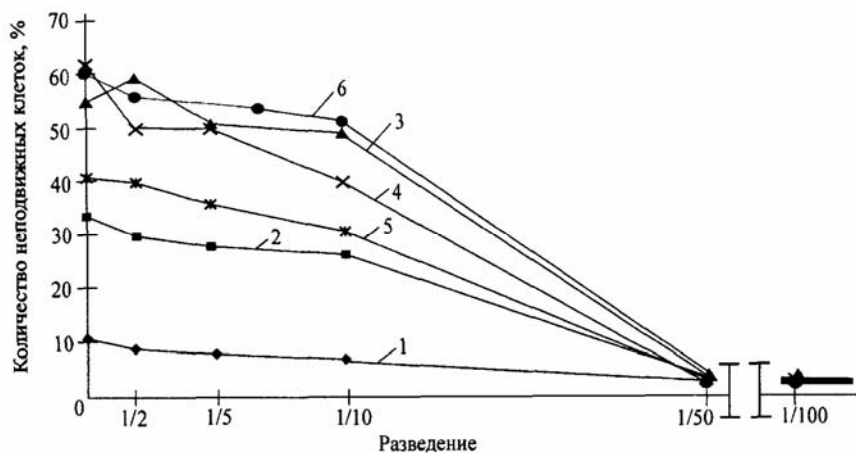


Рис. 3. Изменение функциональных нарушений одноклеточной водоросли *Dunaliella viridis* под действием сыворотки крови различной степени разведения: 1 – контроль; 2 – острый варикотромбоз и тромбоз глубоких вен; 3 – миастения; 4 – билиарный цирроз; 5 – панкреонекроз; 6 – ожоговая болезнь

Во всех исследуемых СК, содержащих потенциально цитотоксические факторы различной природы, наблюдали значительное увеличение

коэффициентов цитотоксичности. В сыворотке крови больных острыми варикотромбозами и тромбозом глубоких вен коэффициент цитотоксичности возрос в 9 раз, а в сыворотке крови больных билиарным циррозом – в 23 раза. Таким образом, можно констатировать высокую чувствительность клеток *D. viridis* к цитотоксическому действию сывороточных факторов различной природы.

Таблица 1

Значения коэффициента индуцированной цитотоксичности

Исследуемая группа сыворотки крови	Коэффициент индуцированной цитотоксичности ( $K_{ц}$ ) при $K_{сп} = 4$
Контрольная группа	0,5±0,04
При остром варикотромбозе и тромбозе глубоких вен	4,5±0,66
При миастении	9,7±0,76
При билиарном циррозе	11,3±1,01
При панкреонекрозе	6,8±0,61
С ожогами	7,8±0,4

Примечание. Достоверность различия с контролем  $p \leq 0,05$ ;  $K_{сп}$  – коэффициент спонтанной цитотоксичности контрольного образца.

При различных заболеваниях выявляется выраженная гетерогенность наблюдаемых эффектов в клеточной тест-системе *D. viridis*. Видимо, изменение формы клеток и ее функциональной активности является следствием реорганизации актинового цитоскелета, который является структурным каркасом клетки (Хаитов и др., 2006). Под действием цитотоксических факторов исходных СК, полученных от больных с различными нозологическими формами, наблюдали достоверное увеличение морфофункциональных изменений клеток биоиндикатора *D. viridis* по сравнению с контрольными значениями.

Наименьшее количество морфофункциональных изменений клеток биоиндикатора было выявлено в СК больных с острыми варикотромбозами и тромбозами глубоких вен. Возможно, это связано с тем, что данное заболевание на фоне изменения функции антисвертывающей системы, эндотелиальных клеток и молекул адгезии, аффинности иммунокомпетентных клеток характеризуется образованием сгустков форменных элементов крови, которые могут сорбировать цитотоксические сывороточные компоненты.

В СК больных миастенией выявили наибольшее количество агрегированных клеток на фоне увеличения морфофункциональных изменений клеток *D. viridis*. Очевидно, в данной сыворотке находится большое разнообразие цитотоксических факторов, которые вызывают временный «паралич» клеток (отсутствие движения и импульсивное подергивание),

обусловленный повышением концентрации низкомолекулярных цитотоксических факторов, органоспецифических антител и продуктов их катаболизма.

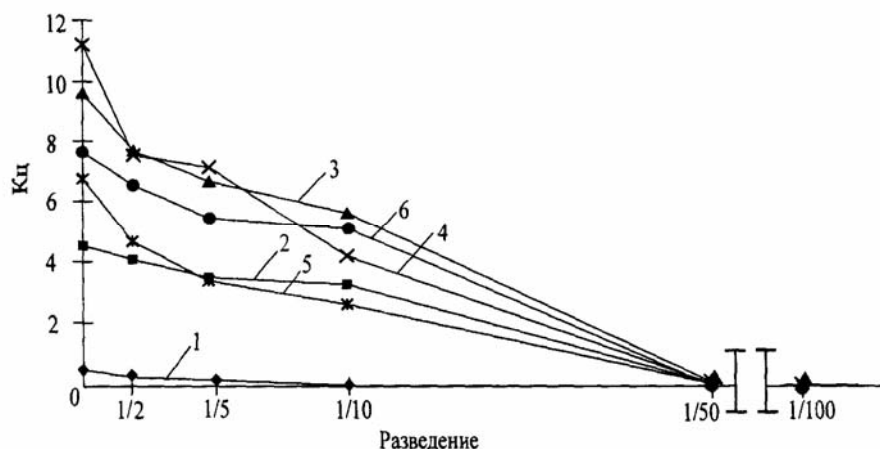


Рис. 4. Изменение коэффициента индуцированной цитотоксичности ( $K_{цп}$ ) под действием сыворотки крови различной степени разведения: 1 – контроль; 2 – острый варикотромбоз и тромбоз глубоких вен; 3 – миастения; 4 – билиарный цирроз; 5 – панкреонекроз; 6 – ожоговая болезнь

Максимальные значения морфологических и функциональных изменений клеток микроводорослей *Dunaliella viridis* наблюдали в СК больных билиарным циррозом. Вероятно, это обусловлено изменением детоксикационной функции печени и формированием цирротических изменений сосудов печени, что приводит к увеличению токсических факторов в тканях, крови, лимфе.

При панкреонекрозе выявлены значительные увеличения количества морфофункциональных изменений клеток биоиндикатора с образованием значительного количества агрегатов. Это можно объяснить наличием множественных секвестров поджелудочной железы, в которых в основном сосредоточены токсические выпоты из железы, и неэффективностью супрессорных механизмов в иммунной системе, приводящих к накоплению в сыворотке крови цитотоксических факторов различной природы.

В СК больных ожоговой болезнью выявлено наибольшее количество неподвижных клеток микроводорослей *D. viridis*. Вероятно, это было следствием того, что сыворотка больных в период острой ожоговой болезни содержит цитотоксические факторы, природа которых близка к факторам, которые встречаются при миастении и циррозе.

Ранее была показана дозовая зависимость влияния токсического фактора на поведение тест-организмов (Bozhkov et al., 2010). Также известно, что высокие концентрации цитотоксических факторов могут



вызвать гибель значительного количества клеток или необратимые изменения клеточной мембраны, нарушить экспрессию клеточных рецепторов с последующим изменением функции ионных каналов (Dolle et al., 1988). А снижение концентрации исследуемой сыворотки при ее разведении позволит установить обратимые биологические эффекты, затрагивающие морфофункциональные характеристики клеток биоиндикатора.

Результаты, полученные при изучении дозовой зависимости цитотоксических эффектов при разведении СК больных миастенией, показали, что разведение такой сыворотки крови снижало ее токсический эффект. Выявлено незначительное увеличение количества функционально измененных (неподвижных) клеток при двукратном разведении СК больных миастенией. Возможно, это происходило также за счет уменьшения количества погибших клеток *D. viridis* при их взаимодействии с более низкой концентрацией цитотоксических сывороточных факторов. В то же время после действия разведенной сыворотки, содержащей миастогенные факторы на тест-систему, клетки биоиндикатора не образовывали агрегаты и не выделяли экзометаболиты. То есть, при воздействии разведенной сыворотки, содержащей миастогенные факторы, выявлен феномен «меньше доза – больше эффект».

Таким образом, двукратное и дальнейшее разведение сыворотки (1/5, 1/10) приводит к резкому снижению наблюдаемых эффектов изменения морфофункциональных характеристик клеток биоиндикатора. При значительных разведениях (1/50, 1/100) СК больных физиологическим раствором значения морфофункциональных изменений клеток *D. viridis* соответствуют спонтанному уровню.

## Выводы

1. Способ биоиндикации с использованием одноклеточной водоросли *Dunaliella viridis* позволяет выявить наличие различных цитотоксических факторов в сыворотке крови больных с критическими состояниями и оценить степень их цитотоксичности.

2. Наибольшим цитотоксическим действием на клетки микроводорослей *D. viridis* обладает СК, полученная от больных билиарным циррозом  $K_{\text{ц}} = (11,25 \pm 1,01)$ , наименьший цитотоксический эффект проявляет сыворотка крови, полученная от больных с острыми варикотромбозами и тромбозом глубоких вен  $K_{\text{ц}} = (4,5 \pm 0,66)$ .

3. Выявлена дозовая зависимость цитотоксических эффектов различных сывороток крови при их действии на клетки микроводоросли *D. viridis*. При разведении сыворотки крови коэффициент цитотоксичности снижался по сравнению с эффектами, которые оказывали нативные сыворотки крови, и соответствовал значениям контрольной группы.

4. Двукратное разведение высокотоксичной миастогенной сыворотки крови приводило к увеличению функционально неактивных (неподвижных) клеток микроводоросли *D. viridis*. При последующих разведе-

ниях наблюдали постепенное снижение количества неподвижных клеток до уровня значений контрольной группы сравнения.

*Божков А.И., Климова Е.М., Бойко В.В.* Связь клинических форм миастении с частотой встречаемости HLA-DR-фенотипа и разработка клеточного биосенсора для оценки этой патологии // *Наук.-теорет. журн. Президії НАНУ.* – 2002. – № 3. – С. 35–40.

*Божков А.И., Мензянова Н.Г., Климова Е.М.* Использование водорослей в качестве клеточного биосенсора при оценке патологических состояний организма // *Горизонты биофизики. От теории к практике.* – Пущино: Ин-т теорет. и эксперим. биофиз., 2003. – С. 66–69.

*Божков А.И., Кузнецова Ю.А., Мензянова Н.Г.* Интенсивность экскреции и состав выделений проростков пшеницы при накопительном и проточном сборе экзо-метаболитов // *Биол. вестн.* – 2007. – **11**, № 2. – С. 14–18.

*Бережецкий А.Л., Дюрье К., Нгуен-Нгоу Х. и др.* Кондуктометрический биосенсор на основе микроводорослей для оценки содержания тяжелых металлов в сточных водах // *Биополимеры и клетка.* – 2007. – **23**, № 6. – С. 511–518.

*Брянцева Ю.В.* Индекс формы одноклеточных водорослей как новый морфометрический критерий // *Экол. моря.* – 2005. – № 67. – С. 27–31.

*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.

*Климова О.М., Божков А.И., Кордон Т.И., Лавінська О.В.* Оцінка сумарних цитотоксичних факторів за зміною імунологічних показників та фізіологічного відгуку клітинного біосенсору // *Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. Біол.* – 2010. – **27**, № 1–6. – С. 167–172.

*Климова Е.М., Кордон Т.И., Дроздова Л.А., Калашикова Ю.В.* Использование клеточного биосенсора для интегральной оценки изменений метаболических и иммунологических показателей у больных различными формами миастении до и после операции // *Биол. вестн.* – 2007. – **11**, № 2. – С. 9–13.

*Ковальчук Л.И., Мальцев Д.В., Войтюк Т.В.* Цитологические особенности лимфоцитов у больных с активной герпетической инфекцией: возможности ранней скрининговой диагностики // *Клін. імунол. Алергологія. Інфектологія.* – 2008. – **14**, № 3. – С. 55–58.

*Козлов В.К.* Сепсис: иммунопатогенез тяжелого сепсиса // *Там же.* – 2009. – **20/21**, № 1/2. – С. 17–24.

*Слонская Т.К., Плетенева Т.В., Еришов Ю.А.* Оценка биологической активности токсических агентов с помощью одноклеточных моделей // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* – 1997. – **123**, № 5. – С. 519–526.

*Сыроешкин А.В., Гребенникова Т.В., Байкова В.Н. и др.* Новый подход к исследованию патофизиологии клетки: изучение распределения клеток по размерам и форме как метод диагностики и мониторинга заболеваний // *Клин. лаб. диагност.* – 2002. – № 5. – С. 35–40.

*Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А.* Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 345 с.

- Пат. UA № 19128, A61B10/00, G01N33/49. Процес діагностики і прогнозу клінічного перебігу патологічного процесу / О.М. Климова, А.І. Божков, В.В. Бойко – Заявл. 24.02.2006; Опубл. 24.02.2006, Бюл. № 12.
- Пат. UA № 08958, G01N33/15, C12Q1/04, C12M1/34. Спосіб біосенсорної індикації цитотоксичних факторів біологічної і хімічної природи / О.М. Климова, В.В. Божков, В.В. Бойко, Т.І. Кордон, Л.А. Дроздова, О.В. Лавінська – Заявл. 28.08.2009; Опубл. 10.03.2010. Бюл. № 5.
- Banerjee P., Bhunia A.K.* Mammalian cell-based biosensors for pathogens and toxins // Trends in Biotechn. – 2009. – **27**, N 3. – P. 179–188.
- Bozhkov A., Padalko V., Dlubovskaya V., Menzianova N.* Resistance to heavy metal toxicity in organisms under chronic exposure // Indian J. Experim. Biol. – 2010. – **48**, N 7. – P. 679–696.
- Dolle R., Nultsch W.* Effects of calcium and calcium channel blocker [<sup>3</sup>H] verapamil to membrane fractions of *Chlamydomonas reinhardtii* // Arch. Microbiol. – 1988. – **101**. – P. 18–23.
- Lukavsky J., Furnadzhieva S., Ditttr F.* Toxicity of trichloroethylene (TCE) on some algae and cyanobacteria / Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 2011. – **86**, N 2. – P. 226–231.
- Naessens M., Tran-Minh C.* Whole-cell biosensor for determination of volatile organic compounds in the form of aerosols // Analit. Chim. Acta. – 1998. – **364**, N 1-3. – P. 153–158.
- Norikazu M., Tomonori K. and Miho T.* Use of Paramecium species in bioassays for environmental risk management: Determination of IC50 values for water pollutants // J. Health Sci. – 2007. – **49**, N 6. – P. 429–435.

Получена 13.04.11

Рекомендовала в печать Е.И. Шнюкова

*E.M. Klimova<sup>1</sup>, E.V. Lavinskaya<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>SI Institute of General and Emergency Surgery, AMS of Ukraine,  
1, Entry Balakirev, 61018 Kharkov, Ukraine

<sup>2</sup>Research Institute of Biology, V.N. Karazin Kharkov Nat. Univ.,  
4, Sq. Svobody, 61022 Kharkov, Ukraine  
e-mail: lavinskaya\_5@mail.ru

#### USE OF THE MICROALGAE *DUNALIELLA VIRIDIS* TEODOR. (*CHLOROPHYTA*) AS A CELL BIOINDICATOR

It has been investigated the influence of cytotoxic components of the blood serum of patients with critical conditions (acute varicose thrombosis end deep vein thrombosis, myasthenia gravis, biliary cirrhosis, pancreatonecrosis, burns.) on the cells of microalgae *Dunaliella viridis*. The responses of bioindicator cells indicate about the presence mechanisms of cytotoxic actions affecting the metabolic activity, the functioning of the membrane complex, the ion channels of cells. Qualitative and quantitative differences between the reactions of microalgae, as well as the concentration dependence of cytotoxic factors indicate that the number and nature of these factors is different at different critical conditions.

**Key words:** cytotoxicity, bioindication, sensitive, express method.