

Міністерство освіти і науки України

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ЗІНАБАДІНОВА САБРІЄ СЕРВЕРІВНА

УДК 591.3:598.6:615.916-022.513.2

**БІОЛОГІЧНИЙ ВПЛИВ ВОЛОКНИСТИХ ТОКСИКАНТІВ РІЗНОЇ
ХІМІЧНОЇ ПРИРОДИ НА КУРЯЧІ ЕМБРІОНИ**

03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2017

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України

Наукові керівники:

доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАМН України

Чайковський Юрій Богданович

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
МОЗ України, завідувач кафедри гістології та ембріології;

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

Сегеда Тетяна Прокопівна

Київський університет імені Бориса Грінченка МОН України,
професор кафедри фізичної реабілітації та біокінезіології.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор,
Заслужений діяч науки і техніки України

Рибальченко Володимир Корнійович

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
МОН України, головний науковий співробітник НДС
«Мембранології і цитології»;

доктор біологічних наук, професор

Волков Костянтин Степанович

Тернопільський державний медичний університет імені
І.Я. Горбачевського МОЗ України, завідувач кафедри гістології
та ембріології.

Захист відбудеться « 26 » _____квітня_____ 2017 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, проспект Академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434.

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада Д 26.001.38

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58, зал №12.

Автореферат розісланий « 14 » _____березня_____ 2017 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38,
доктор біологічних наук

К.О. Дворщенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Останнім часом в усьому світі зростає увага до розвитку нанотехнологій. Одними із найперспективніших є волокнисті вуглецеві наноматеріали. Враховуючи, що обсяги їх виробництва постійно розширюються, і надалі очікується тісний контакт людини та інших біологічних об'єктів із наночасточками, вивчення потенційних ризиків їх використання розглядається в якості одного з першочергових завдань. Аналогічна ситуація, проте з природним волокнистим матеріалом – азбестом, спостерігалась в минулому у зв'язку з його активним впровадженням у будівництво та інші сфери людської діяльності. Ентузіазм світової спільноти різко впав після виявлення канцерогенних властивостей цього матеріалу. І сьогодні питання про використання азбесту залишається відкритим. Нещодавно воно було знов розглянуто на нараді країн-членів Європейського бюро ВООЗ щодо питань оточуючого середовища та здоров'я, яка відбулась 30 квітня 2015 року.

Зважаючи на схожість, особливо на структурову подібність, волокон азбесту та вуглецевих нановолокон, цілком закономірно, що все більше і більше дослідників працюють над проблемою порівняння їх біологічної дії на тканини та органи живих організмів. З огляду на досвід вивчення дії азбесту основна увага дослідників у таких експериментах зосереджена на порівнянні ефектів від дії волокон у легенях, на мезотелій очеревини та на шкіру. У літературі зустрічаються також документування фактів спроможності азбесту, спричиняти злоякісні переродження у шлунково-кишковому тракті [Pulev L.N. et. al., 2014], у жіночій статевій системі [Rai A.J., 2011] та викликати рак гортані [Sturgis E.M., 2010]. Накопичення даних щодо високої спроможності волокнистих матеріалів долати різні біологічні бар'єри призвело до започаткування нового напрямку досліджень – вивчення ембріотоксичності. Ще у 90-х роках минулого століття був зібраний значний масив даних стосовно здатності азбестових волокон проходити крізь плацентарний бар'єр [Haque A.K. et. al., 1992, 1996, 1998]. Щодо вуглецевих нановолокон наразі опублікована лише незначна кількість робіт, з яких відомо, що вони також можуть долати плацентарний бар'єр та деякі їх види мають тератогенний ефект [Pietrojusti A. et. al., 2011, Campagnolo L. et. al., 2013; Cela P. et. al, 2014; Moustafa A.E. et. al, 2016].

Відомо, що під загальною назвою «азбест» об'єднуються різні за хімічним складом мінерали, які за формою волокон поділяються на дві групи – амфіболи та хризотил. Волокна азбесту амфіболового типу більш щільні, довгі, практично не розчиняються в кислотах та біологічних рідинах. Хризотилевий азбест вважають інертним щодо живих організмів, оскільки його волокна «м'якші» за амфіболові, розчиняються у біологічних рідинах, краще виводяться з організму. Вважається, що довжина та форма азбестового волокна визначають його фізичні властивості і біологічну агресивність [Pfau J.C. et. al., 2008]. Визнаючи безсумнівний патогенний вплив амфіболу, навколо

безпеки хризотилового азбесту й до тепер не припиняються наукові дискусії [Кундієв Ю.І. та ін., 2008]. Особливо гостро постає це питання в таких країнах як Україна з активним використанням азбестотехнічних виробів у господарському секторі. Таким чином, продовження досліджень та залучення гістологічних методів вивчення впливу азбестових, особливо хризотилових, волокон на клітини і тканини є вкрай необхідним.

Вивчення впливу вуглецевих нановолокон на живі організми є однією з найактуальніших тем сьогодення медико-біологічної тематики. Проведені дослідження для нановолокон різного виробництва, одно- та багаточарових, очищених та з різними типами функціоналізації. На жаль, різниця в експериментальних протоколах (які окрім перерахованих відмін містять інформацію про різні дози та різну довжину застосованих волокон у зразках) не дає змогу узагальнити та стандартизувати результати накопичених даних. Отож, наголосимо на доцільності розширення сфери вивчення біологічних ефектів, спричинених дією азбесту і вуглецевих наноматеріалів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної теми кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Органи нервової, імунної та сечостатевої систем в умовах експериментального пошкодження» № д/р 0112U001413 (2011-2015 р.р.).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – встановити особливості реорганізації структурних компонентів ембріона курки за умов дії волокнистих токсикантів різної хімічної природи.

Досягнення мети передбачало вирішення наступних завдань:

1. Вивчити вплив різновидів азбесту та вуглецевих нановолокон на стан зародків на підставі аналізу показників смертності ембріонів у досліджуваних групах;
2. Дослідити вплив хризотилових волокон на стан тканин та органів зародків курки;
3. Виявити морфологічні зміни впродовж ембріогенезу курки, викликані дією амфіболових волокон;
4. Вивчити спроможність вуглецевих нановолокон викликати альтерації на клітинному та субклітинному рівнях;
5. Виявити можливі шляхи поширення введених волокон в організмі курячих зародків;
6. Дослідити вплив залучених до експерименту волокнистих токсикантів на органи екскреції;
7. На підставі результатів комплексних структурних досліджень вивчити та порівняти тератогенні ефекти, спричинені різновидами азбесту та вуглецевих нановолокон.

Об'єкт дослідження – патогенна дія волокнистих токсикантів різної хімічної природи на живі організми.

Предмет дослідження – біологічні ефекти хризотилового і амфіболового азбесту та вуглецевих нановолокон на курячі ембріони.

Методи дослідження: у роботі використовували морфометричні, оглядові гістологічні методи (включно з методами трансмісійної електронної мікроскопії); макроскопічне вивчення якісних показників розвитку; статистичний аналіз.

Наукова новизна одержаних результатів. Завдяки використанню у дисертаційній роботі однакового дозування та способу введення досліджуваних речовин, стандартизації довжини волокон у зразках вперше отримано вагомі підстави для порівняння біологічних ефектів волокнистих токсикантів різної хімічної природи (волокон хризотилового та амфіболового азбесту і вуглецевих нановолокон).

У роботі дістав подальшого розвитку новітній напрямок дослідження токсичності наноматеріалів – вивчення їх ембріотоксичності. При цьому залучення не лише макроскопічного виявлення дефектів розвитку, а й гістологічних, морфометричних досліджень і ультраструктурного аналізу, дозволило значно поглибити знання у цій науковій сфері.

Наведені вагомі підстави для перегляду розповсюджених у певних наукових сферах уявлень про біологічну інертність хризотилового азбесту: вперше задокументовані спричинені азбестом порушення у серцево-судинній системі зародків (набряк міокарду, агрегація формених елементів, внутрішньосудинний гемоліз еритроцитів); зміни у провізорних органах (дифузні запустіння у кровоносних судинах жовткового мішка); альтерації у органах детоксикації (білкові та жирові дистрофії гепатоцитів) та екскреції (утворення кальцифікатів у просвіті ниркових каналців).

Вперше встановлено особливості впливу амфіболових волокон на складові нервової, серцево-судинної та опірно-рухової систем курячих зародків (дистрофічні та некротичні зміни кардіоміоцитів, хондроцитів, клітин нейроглії); досліджено дію амфіболу на провізорні органи (руйнування стінок судин жовткового мішка, інтраваскулярна агрегація кровотворних клітин); виявлено спричинені дією амфіболу некробіотичні та некротичні альтерації гепатоцитів.

Для вуглецевих нановолокон вперше прослідковані морфологічні прояви їх дії на організмовому, клітинному та субклітинному рівнях:

- цитотоксична дія (пошкодження плазмалеми клітин, дезорганізація міжклітинних контактів, утворення електронощільних включень у мітохондріях);

- реорганізацію гістоархітекtonіки органів (порушення структури печінкових часточок, набряк та десквамація епітелію ниркових каналців);

- деструктивні зміни у серцево-судинній системі зародків (альтеративні процеси в міокарді, виражений руйнівний ефект щодо стінок кровоносних судин та всіх формених елементів);

- гальмівний вплив на розвиток зародків (збільшення кількості зародків із маленькими розмірами від 9,09% у контролі до 60% у групі із введенням нановолокон; підвищення смертності зародків від 9,09% у контрольній групі до 68,57% у групі із введенням нановолокон).

Практична значимість одержаних результатів. Наведений алгоритм розпізнавання вуглецевих нановолокон може бути використаним для створення критеріїв верифікації нановолокон на гістологічних препаратах. Встановлені спричинені дією нановолокон специфічні ультраструктурні пошкодження в подальшому можуть слугувати для створення критеріїв морфологічної індикації нанотоксичності та сприяти створенню рекомендацій щодо використання наноматеріалів у медицині.

Результати досліджень дозволяють отримати комплексну оцінку якісного стану ембріонів на різних етапах ембріогенезу, а також дають уявлення про специфіку реакцій організму на дію пошкоджуючого агенту, що може бути використано в біотехнології для цілеспрямованого відбору ембріональних тканин при розробці біологічно активних та лікарських препаратів.

Отримані дані можуть бути використані в навчальних процесах при проведенні лекцій і практичних занять з біології розвитку, гістології та ембріології.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно визначено основні напрямки наукового пошуку, обґрунтовано методологію дослідження, проаналізовано наукову літературу. Автором особисто здійснена статистична обробка отриманих даних та їх аналіз. Особисто автором виготовлені та вивчені ультратонкі й напівтонкі зрізи, гістологічні препарати, здійснено їх фотодокументування і морфометрична обробка. Самостійно виконано інформаційний пошук, проаналізовано результати всіх напрямків дослідження, написані і проілюстровані всі розділи дисертації та її висновки.

Комплексне лабораторне забезпечення досліджень здійснено на кафедрі гістології та ембріології НМУ імені О.О. Богомольця. Консультування щодо виготовлення препаратів для світлової та трансмісійної мікроскопії здійснювали старші лаборанти Гребенщикова Н.О., Вішнівська Н.В. Професорами Терещенко В.П., Чайковським Ю.Б., Дегтярьовою Л.В. та Сегедою Т.П. проведено наукове консультування кожного етапу виконання дисертації. Всі дані, отримані у співавторстві, відображені у спільних публікаціях.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались та обговорювались на конференції молодих науковців Інституту сорбції та проблем ендоекології НАН України (Київ, 2009), IX науковій конференції студентів та молодих науковців в Україні (Київ, 2009), науково-практичній конференції «YouthNanoBioTech-2010. Молодіжний форум з нанотехнологій» (Київ, 2010), науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної патоморфології» (Київ, 2012), IX конгресі патологів України «Актуальні проблеми патології» (Луганськ, 2013).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 10 наукових робіт, з яких 5 наукових статей у фахових виданнях, що відповідають вимогам МОН України, з яких 2 у наукових виданнях інших держав, що індексуються міжнародними наукометричними базами; а також 1 стаття в збірнику наукових праць; 1 стаття

в періодичному (медичному) виданні; 3 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій та конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, переліку умовних скорочень, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, 3-х розділів результатів власних досліджень, розділу, присвяченому аналізу й узагальненню результатів, висновків та списку використаних джерел, який складається з 181 найменувань. Матеріали дисертаційної роботи викладені на 199 сторінках (з яких основна частина займає 166 сторінок, ілюстрована 7 таблицями, 113 рисунками, з них 4 діаграм, 116 мікрофотографій та 116 електронограм.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Матеріалом дослідження були обрані курячі ембріони, отримані при інкубуванні яєць лінії Хай-Лайн (Hu-Line). Об'єктам у експериментальних групах на 3 добу інкубації у жовтковий мішок (терміни зумовлені закономірностями розвитку кровоносної системи) вводили суспензії на біосумісному декстрані хризотилового і амфіболового азбесту, вуглецевих нановолокон.

Розрахунок дозування був здійснений на основі мінімальної порогової дози активованого вугілля 1 г на 70 кг, у перерахунку на вагу жовтка (22 г). Таким чином, доза введених речовин для кожного об'єкту складала 0,31 мг (тобто 14 мг/кг). Стерилізація матеріалу здійснювалась за температури 120°C впродовж 60 хвилин.

Типи інтродукованих волокон:

– Азбест К-6-30, ДСТУ 12871-93 і 25984-83, SiO₂ = 43%, MgO = 40%, допускався вміст домішок: FeO, Fe₂O₃, Al₂O₃, CaO. Зразки азбесту №1 і №2 приблизно ідентичні за хімічним складом, проте відрізняються за типом волокон: зразок №1 містить хризотиліві волокна, зразок №2 – амфіболові.

– Вуглецеві нановолокна, синтезовані в Інституті хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України. Діаметр окремих нановолокон варіював в межах 10-20 нм. Розміри нановолокон визначали за методом калібрувальних решіток (сіток) для електронної мікроскопії виробництва Selmi (Україна).

Загалом у дослідженні було задіяно 147 ембріонів, які були розділені на окремі групи (таблиця 1).

Таблиця 1

Розподіл експериментального матеріалу на групи (n=147)

Експериментальні групи	Кількість об'єктів
Інкубація із долученням хризотилового азбесту	19
Інкубація із долученням амфіболового азбесту	29
Інкубація із долученням вуглецевих нановолокон	35
Інтактні	20
Контрольна група із долученням декстрану	44

Проводилось дослідження зародків на ранніх (до 8 доби інкубації включно), на середніх (до 15 доби включно) і на пізніх (після 17 доби) строках інкубації. Був проведений аналіз загального стану тканин та органів (на всіх строках інкубації), жовткового мішка (ранні та середні строки інкубації), печінки (ранні та середні етапи розвитку), нирок (пізні стадії розвитку) і легень (середні та пізні строки інкубації).

Для усіх зародків здійснювалось оцінювання якісних показників розвитку: а) стану ембріонів («живий» або «мертвий» за наявністю серцебиття), б) розмірів тіла (отримані дані порівнювались із аналогічними показниками, наведеними у таблицях нормального розвитку курячих зародків, складених В. Гамбургером і Г. Гамільтоном); в) розвитку судинної оболонки (виявлені патології були розділені на три групи: дифузне запустіння, гіперемія та відсутність/спадіння судин).

Здійснене комплексне вивчення матеріалу із залученням оглядових гістологічних (забарвлення гематоксиліном та еозином), електронікроскопічних, та статистичних методів. Також за допомогою морфометричних методів (планіметричних, з використанням комп'ютерної програми ImageJ) виміряно дані щодо площі епітелію проксимальних і дистальних каналців у нирках зародків.

За результатами проведених досліджень характеристики зародків в інтактній та контрольній (із задіянням декстрану) групах не відрізнялись. Біосумісність декстрану та оптимальний підбір способу введення матеріалів був доведений також гістологічними дослідженнями. Тому в роботі ми вважали доцільним порівнювати показники експериментальних груп із показниками контрольної групи.

Статистичну обробку результатів для ембріонів усіх груп вираховували з використанням програм Microsoft EXCEL (версія 6.0), Origin. Відмінності між вибірками оцінювались за критерієм Стьюдента. Морфометричні показники оброблено за допомогою U-критерія Манна-Уїтні. Твердження про наявність істотних розбіжностей приймали при вірогідності помилки $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У розділах 3, 4 наведено обговорення та аналіз результатів макроскопічного та гістологічного дослідження стану зародків.

Морфологічна верифікація інтродукованих волокон. Серед досліджених ембріонів експериментальних груп локалізація введених чужорідних волокон була виявлена в усіх об'єктах. На гістологічних препаратах ідентифікували кристали та волокна азбесту, нановолокна із внутрішньоклітинним, внутрішньо- та позатканинним (у жовтку і білковій частині яйця) розташуванням.

Розпізнавання кристалів та волокон азбесту в органах і тканинах ембріонів курки не викликало труднощів, а виявлення нановолокон вимагало

прискіпливого аналізу відкладень, які можна було прийняти за артефакти пофарбування препаратів.

Шляхи поширення введених волокон в організмі. У більшості відомих на сьогодні досліджень щодо впливу волокнистих матеріалів (нановолокон та волокон азбесту) наведено дані щодо стану тканин та органів безпосередньо у місці введення матеріалів. Методика нашого дослідження передбачала виявлення можливих шляхів розповсюдження волокон. Так, при дослідженні гістологічних препаратів ми задокументували інтраваскулярну локалізацію хризотилового азбесту, локалізацію вуглецевих нановолокон всередині еритроцитів. Окрім того, нами були задокументовані розташування кристалів амфіболового азбесту у міжклітинній речовині в тілі зародка на значній відстані від місця введення (жовткового мішка).

Зауважуючи, що кровоносна система може бути основним шляхом поширення введених волокнистих токсикантів в організмі, в роботі були вивчені особливості впливу кожного виду введених волокон на серцево-судинну систему (рис. 1).



Рис. 1. Характеристика впливу введених волокон на компоненти серцево-судинної системи.

Таким чином, у нашому дослідженні продемонстровано, що усі види волокон, володіючи унікальними механізмами впливу на компоненти серцево-судинної системи, в результаті призводили до значних порушень кровообігу зародків.

Взаємодія з імунною системою. В результаті проведеного дослідження було вивчено спроможність різних типів волокон викликати у відповідь на їх введення макрофагальну реакцію (рис. 2).

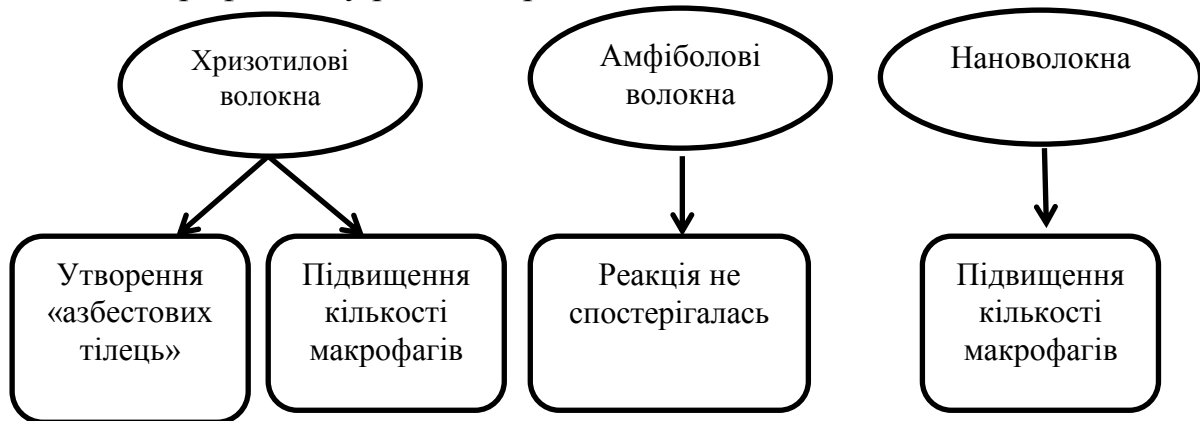


Рис. 2. Реакція імунної системи на введення різних типів волокон.

Таким чином, можемо констатувати, що проникнення хризотиліових волокон у жовтковий мішок і його кровоносну систему викликало у відповідь макрофагальну реакцію. Біля окремих волокон азбесту спостерігалось утворення структур, схожих на «азбестові тільця». В середині такої структури розташовувалось витягнуте азбестове волокно, яке оточувалось макрофагами (така морфологічна верифікація підтверджена ультраструктурним аналізом).

На відміну від хризотиліового азбесту введення волокон амфіболу не спричиняло масштабного розмноження макрофагів. Проте зазначимо, що амфіболовий азбест виявився тропним до клітин з високою проліферативною активністю – гемопоетичних (імовірно, стовбурових) клітин. Їх руйнування викликало значне зниження кількості гемоцитів. Саме така критична нестача клітинних ресурсів, на нашу думку, могла стати причиною недостатнього утворення клітин-фагоцитів (макрофагів) і неможливості формування імунної відповіді на вплив амфіболових волокон.

Аналіз проведених досліджень виявив посилене розмноження макрофагів у відповідь на дію хризотиліового азбесту (з утворенням «азбестових тілець») і нановолокон, та відсутність макрофагальної реакції на вплив амфіболових волокон.

Цитотоксична дія. Для усіх експериментальних груп зародків документувались морфологічні ознаки гемолізу клітин в судинах кров'яних острівців. Ми припускаємо, що важливою складовою процесу гемолізу є здатність волокон зв'язуватись та пошкоджувати клітинні мембрани. Саме таке руйнування мембран в особливо важких випадках призводить до гемолізу. Також ми виявили певну подібність цитотоксичної дії, яку проявили амфіболові волокна та нановолокна (рис. 3).

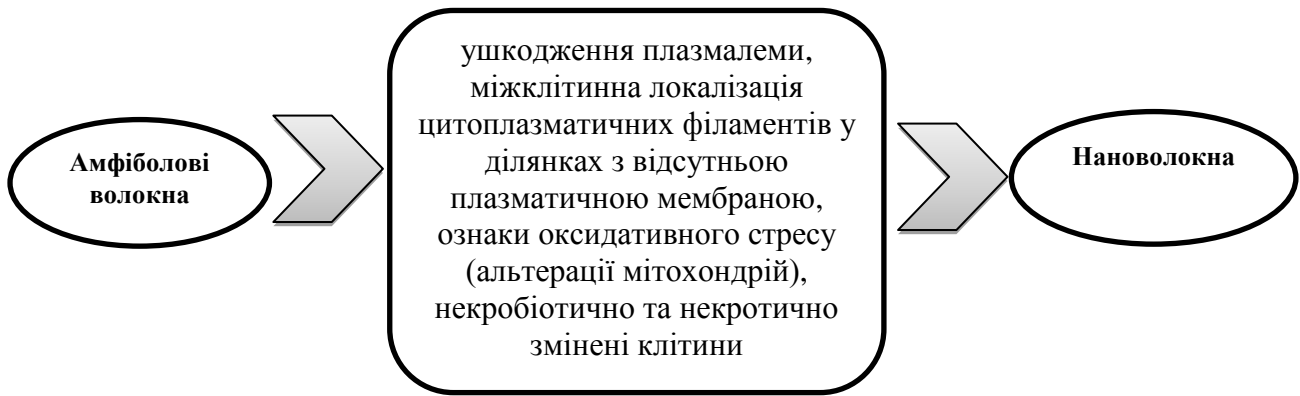


Рис. 3. Спільні морфологічні прояви впливу волокон амфіболового азбесту та вуглецевих нановолокон.

Якщо на початкових етапах цитотоксичність амфіболів та нановолокон мала ознаки подібності, надалі кожен вид волокон провокував специфічні ультраструктурні пошкодження. Так, у обох групах документувались морфологічні ознаки оксидативного стресу – альтерації мітохондрій. Проте, якщо у групі із введенням амфіболового азбесту мітохондрії мали ознаки значного набряку та різного ступеня дезорганізації крист, то у клітинах зародків, яким було введено нановолокна, спостерігались деформації форми мітохондрій та поява темних включень в їх середині. Також типовою патологією для клітин, що зазнали дії амфіболового азбесту, стала вакуолізація цитоплазми, а у зародків із введенням нановолокон дуже часто спостерігалась поява в цитоплазмі внутрішньоклітинних розривів та спричинені ними деформації форми ядра; серед патологій органел були відмічені розширення цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулуму. Окрім того для клітин епітеліального походження у групі із введенням нановолокон відмічались процеси зморщування клітин таким чином, що вони залишались з'єднаними між собою лише у місцях найміцнішого зчеплення (у ділянках локалізації десмосом).

Свідчення дії введених волокон в організмі – результати макроскопічних досліджень. Жовтковий мішок за нашою методикою введення першим контактував з інтродукованими волокнами, тому стан судин жовткової оболонки є високоінформативним показником, який характеризує найперші реакції організму курячих ембріонів на вплив введених волокнистих структур. Найбільша кількість зародків із нормально розвиненими судинами жовткового мішка серед експериментальних груп була виявлена у групі із введенням хризотилового азбесту, який, вочевидь, найменше травмує судини (рис. 4).

Схожий вплив на кровоносну систему продемонстровано для волокон амфіболу та нановолокон: за кількістю зародків із нормально розвиненою судинною системою дані експериментальні групи були подібними між собою.

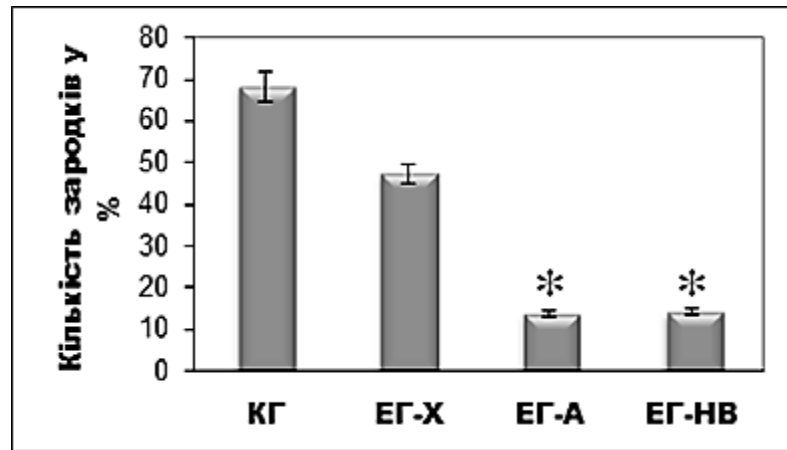
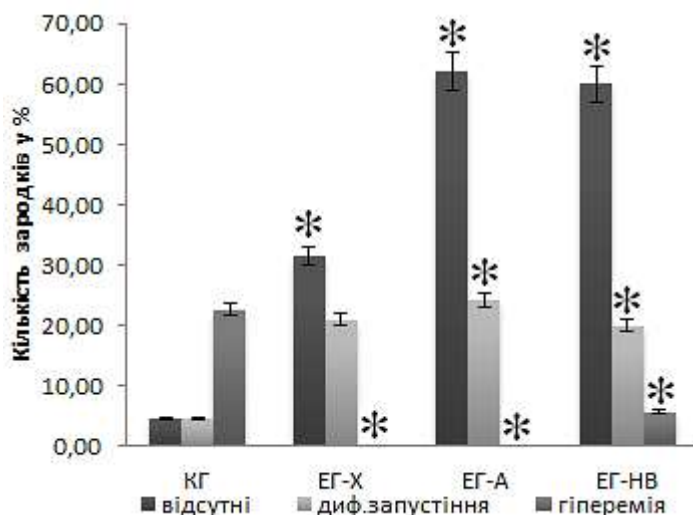


Рис. 4. Зародки із нормально розвиненими судинами жовткової оболонки (сумарно, всі етапи ембріогенезу) у контрольній групі (КГ), групах із введенням хризотилового (ЕГ-Х) та амфіболового (ЕГ-А) різновидів азбесту, нановолокон (ЕГ-НВ). * – $p < 0,05$ відносно показників у контрольній групі.

Серед судин із ознаками патологічних змін ми спостерігали наступний розподіл (рис. 5). Для експериментальних груп продемонстровано, що всі типи волокон на перших етапах потрапляння в організм зародків починали діяти однаково (статистично значущої різниці в кількості судин із дифузним запустінням в усіх експериментальних групах немає). Імовірно, механічно уражуючи судини, волокна викликали локальні порушення (запустіння) у кровопостачанні жовткової оболонки.

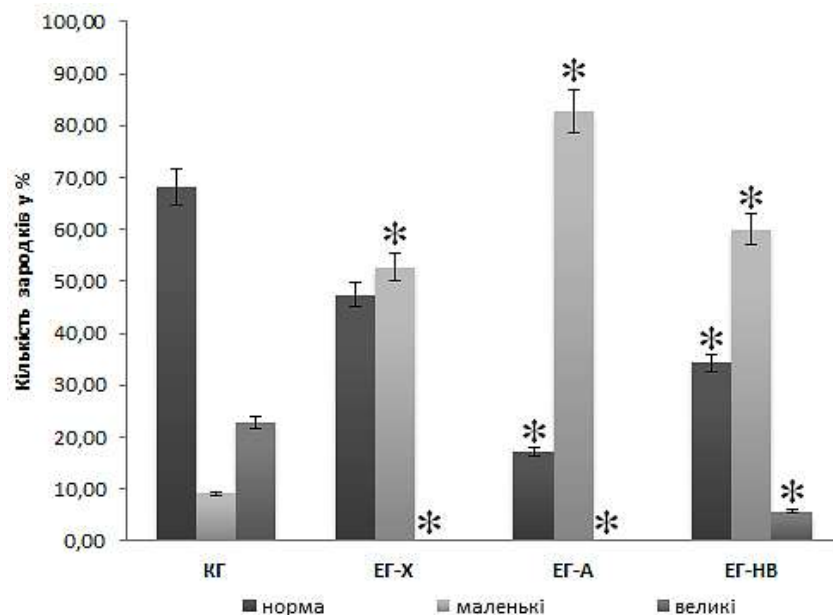
Насамперед, такі зміни відбувались у дрібних судинах. Подальше надходження волокон, особливо амфіболового азбесту та нановолокон в організм зародків, призводило до поширення руйнування їх судинної сітки.



Саме в цих групах спостерігається подібність між показниками кількості випадків тотального запустіння судин жовткової оболонки. Повне руйнування судин під впливом хризотилівих волокон виявлялась у вдвічі меншій кількості зародків, аніж в групах із введенням амфіболового азбесту та нановолокон.

Рис. 5. Кількість зародків із патологічно розвиненими судинами жовткової оболонки у контрольній групі (КГ), групах із введенням хризотилового (ЕГ-Х) та амфіболового (ЕГ-А) різновидів азбесту, нановолокон (ЕГ-НВ). * – $p < 0,05$ відносно показників у контрольній групі.

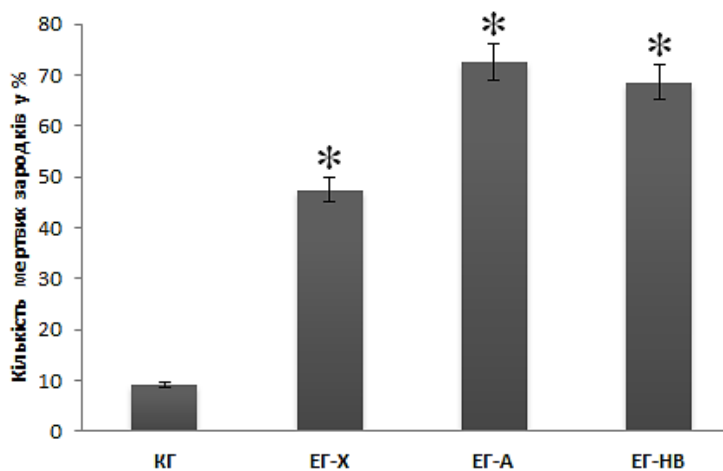
Напряму з кровопостачанням пов'язана така важлива характеристика розвитку зародків як їх розмір. Найменш руйнівним виявився хризотилловий азбест. Знов була продемонстрована подібність ефектів від дії нановолокон та волокон амфіболового азбесту, які чинили найбільш гальмівний вплив на розвиток зародків, обумовлюючи їх маленькі розміри. Окрім того, дія нановолокон виявилась



різноспрямованою. Більшість зародків мали маленькі розміри, проте розвиток невеликої кількості зародків залишився відповідним нормам контролю. Зауважимо, що у групах із введенням обох різновидів азбесту не було жодного великого зародка (рис. 6).

Рис. 6. Характеристика розмірів зародків у контрольній групі (КГ), групах із введенням хризотилового (ЕГ-Х) та амфіболового (ЕГ-А) різновидів азбесту, нановолокон (ЕГ-НВ). * – $p < 0,05$ відносно показників у контрольній групі.

Насамкінець, розглянемо дані про смертність зародків. На рис. 7 продемонстровано, що всі типи введених волокнистих структур значно збільшили показники смертності в експериментальних групах. Як і у випадках з двома попередніми характеристиками, найбільш подібний вплив чинили волокна амфіболового азбесту та нановолокон (числові значення показників смертності в цих експериментальних групах найбільш наближені).



Отже, вплив хризотиллових волокон виявився менш уражуючим, аніж дія амфіболового азбесту та нановолокон. Однак, результати нашого дослідження доводять, що хризотилловий азбест є вкрай небезпечним для живих об'єктів. Його волокна здатні викликати сублетальні та незворотні морфологічні зміни.

Рис. 7. Характеристика смертності зародків у контрольній групі (КГ), групах із введенням хризотилового (ЕГ-Х) та амфіболового (ЕГ-А) різновидів азбесту, нановолокон (ЕГ-НВ). * - $p < 0,05$ відносно показників у контрольній групі.

Структурні зміни, викликані дією волокон у місці введення - результати гістологічних досліджень та ультраструктурного аналізу жовткового мішка. Хризотилловий азбест, щонайперше, уражав найменш детерміновані клітини жовткового мішка, перешкоджаючи появі нових кров'яних острівців, що призводило до недокрів'я. Амфіболовий азбест виявився тропним до клітин з високою проліферативною активністю – гемопоетичних (імовірно, стовбурових) клітин. Їх руйнування викликало значне зниження кількості гемоцитів. Найуразливішими до дії нановолокон виявились клітинні мембрани, незалежно від спеціалізації та ступеня диференціації клітин. Відмічались руйнування плазмалеми, порушення поверхнево-рецепторних взаємодій клітин. Усі види введених волокон, маючи унікальні механізми впливу на структури жовткового мішка, в результаті призводили до значних порушень кровотворення і кровообігу зародка, що закінчувалось гальмуванням розвитку або загибеллю.

Порівняльний аналіз впливу волокон азбесту та вуглецевих нановолокон на легені курячих ембріонів. При дослідженні легень було виявлено, що амфіболові волокна викликали масштабні некротичні процеси, до пізніх строків інкубації зародки з цієї групи не доживали (таблиця 2). На гістологічних препаратах відмічались лише обриси контурів бронхів з повністю зруйнованими або десквामованим епітелієм. У кровоносній системі також спостерігались значні порушення: всі судини мали ознаки переповнення кров'ю, набряку, значного збільшення діаметрів; в судинах великого калібру концентрувались зруйновані еритроцити.

Таблиця 2

Характеристика впливу введених волокон на легені курячих зародків на середніх та пізніх строках інкубації

Тип волокон	Морфологічні прояви впливу	
	Середні строки інкубації	Пізні строки інкубації
Амфіболовий азбест	Масивний некроз клітин, десквамація та кальцинування епітеліоцитів, каріорексис. Повнокрів'я, агрегація еритроцитів, ураження стінок судин, множинні крововиливи	Зародки не доживали до пізніх стадій
Хризотилловий азбест	Однаковий діаметр бронхів, ущільнена мезенхіма з недостатньо розвиненою капілярною сіткою	Дефіцит бронхіол і повітроносних капілярів
Вуглецеві нановолокна	Два напрямки дії: 1) руйнування кровоносної системи, масштабні крововиливи, тотальний некроз паренхіми 2) вуглецеві нановолокна не проявляли патогенного впливу	Без видимих патологій

У зародків, яким було введено хризотиллові волокна, не виявлялась капілярна сітка в мезенхімі навколо бронхів. Порушення ангиогенезу

супроводжувалось значним відставання в утворенні газообмінних структур легень. Проте інших альтерацій не спостерігалось, оскільки, імовірно, за рахунок порушення кровопостачання було припинено надходження нових порцій хризотилкових волокон із системи кровообігу.

Можливо, виявлене порушення ангиогенезу, викликане дією хризотилу, має місце і у легенях дорослих особин: при пошкодженнях волокнами аерогематичного бар'єру послаблюється кровопостачання в прилеглих ділянках, тому такого значного розвитку злякисних перероджень, як у випадку з амфіболовим азбестом, не відбувається. Таким чином, вважаємо, що на основі наших досліджень можна зробити припущення щодо одного з факторів розвитку тривалого латентного періоду після дії хризотилового азбесту.

Вплив нановолокон, як і при попередніх дослідженнях органів, виявився різноспрямованим. В певних випадках, вони викликали тотальний некроз всіх структурних компонентів легень. Найбільш ушкодженою була мезенхіма, яка була відсутня на препаратах, або зустрічалась у вигляді гомогенних скупчень клітин в проміжках між залишками стінок бронхів. В інших випадках дія нановолокон не впливала на будову та розвиток легень. За результатами наших досліджень можемо припустити, що наявні в літературі розбіжності щодо впливів вуглецевих нановолокон на тканини легень (їх шкідливу дію або біосумісність) можна пояснити характером агрегації нановолокон у зразках.

Механізми виведення інтродукованих волокон з організму. Найімовірнішими шляхами виведення волокон із організму вважається екскреція нирками (разом із сечею) та печінкою (разом із жовчу). За результатами проведених нами досліджень задокументовано, що введення азбесту та нановолокон у жовток курячого ембріона призводило до ураження печінки і, вочевидь, впливало на повноцінність її функціонування. Особливістю впливу хризотилового азбесту було суттєве порушення процесів секреції жовчі, а деструктивна дія амфіболового азбесту на гепатоцити посилювалась ураженням клітин крові. Біологічні ефекти від дії нановолокон поєднували в собі феномени, які виникали під впливом хризотилового та амфіболового азбесту, тобто при суттєвому пошкодженні гепатоцитів відзначались порушеннями відтоку жовчі та альтераціями у системі кровопостачання печінки (рис. 8-10).

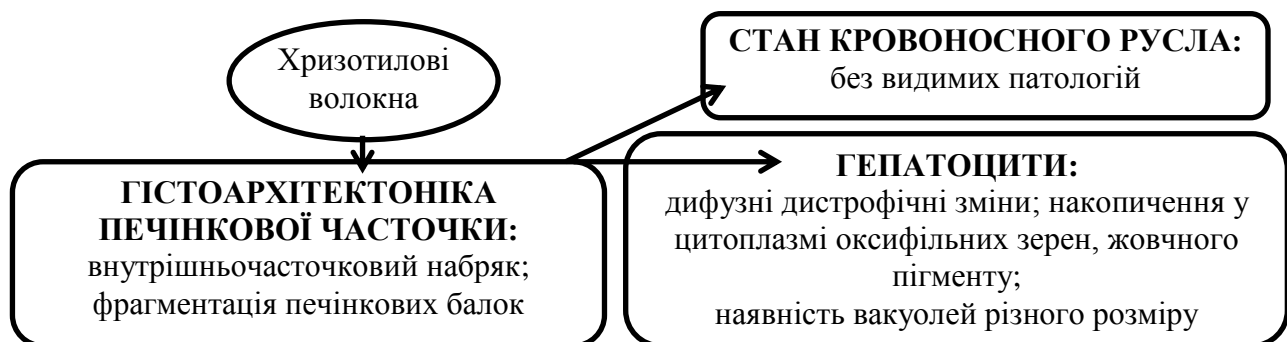


Рис. 8. Основні структурні зміни у печінці курячих зародків після впливу хризотилкових волокон.

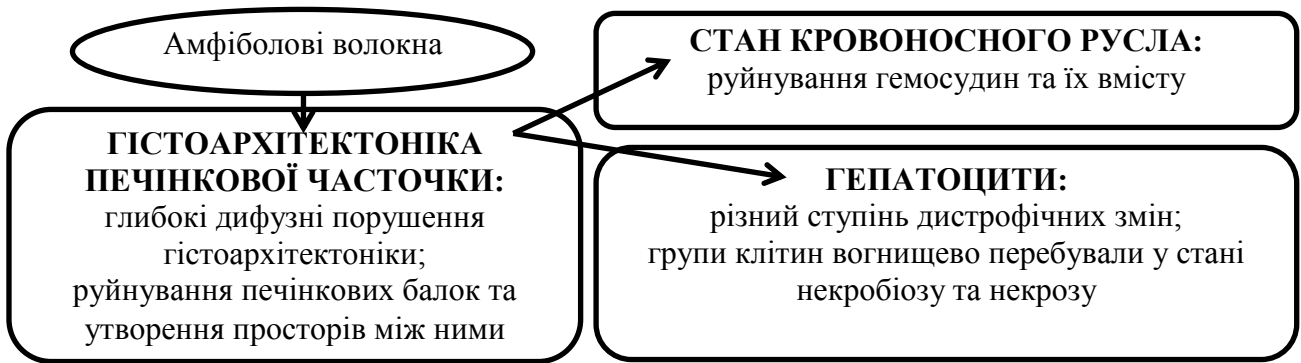


Рис. 9. Основні структурні зміни у печінці курячих зародків після впливу амфіболових волокон.



Рис. 10. Основні структурні зміни у печінці курячих зародків після впливу нановолокон.

Особливості впливу волокнистих токсикантів на видільну функцію нирок. Результати досліджень препаратів нирок виявили значні структурні порушення у морфології даних органів, що спостерігались в експериментальних групах. Природа цих змін в цілому мала дистрофічний характер. Особливо вираженими були процеси в епітелії каналців нирок, причому дистрофічні зміни епітелію проксимальних каналців носили більш тяжкий ступінь, аніж зміни епітелію дистальних каналців. Типовою патологією епітелію, характерною для експериментальних груп із введенням хризотилового азбесту та нановолокон, стала різко означену гідропічна (вакуольна) дистрофія. Були присутні базальний та апікальний набряки епітеліоцитів із частковою або повною дистрофією плазмалеми клітин. У експериментальній групі із введенням азбесту відмічалось відкладення кальцинатів в просвітах ниркових каналців.

Додатково були задіяні морфометричні методики: для контрольної групи та експериментальних груп із введенням хризотилу та нановолокон були виміряні показники площі епітелію проксимальних та дистальних ниркових каналців. Зародки з групи із введенням амфіболу не доживали до пізніх стадій інкубації, отже і не були включені до морфометричних вимірювань.

Порівняльний аналіз площі епітелію проксимальних каналців виявив відмінності за даним показником у всіх експериментальних групах порівняно із результатами контрольної групи. У групі із введенням хризотилу відмічалось збільшення середнього значення площі епітеліоцитів більш ніж у два рази, у групі із введенням нановолокон – незначне зменшення. Цей факт свідчить про різну дію, яку чинять введені волокна на епітелій проксимальних ниркових каналців (рис. 12). Морфометричний аналіз площі епітелію дистальних ниркових каналців виявив відмінності за даним параметром при порівнянні показників групи із введенням хризотилу з контрольною групою (було відмічено збільшення площі епітелію в групі із введенням хризотилу більш ніж у 2,5 рази) та не виявив значущих відмінностей між результатами в групі із введенням нановолокон та контрольною групою (рис. 11).

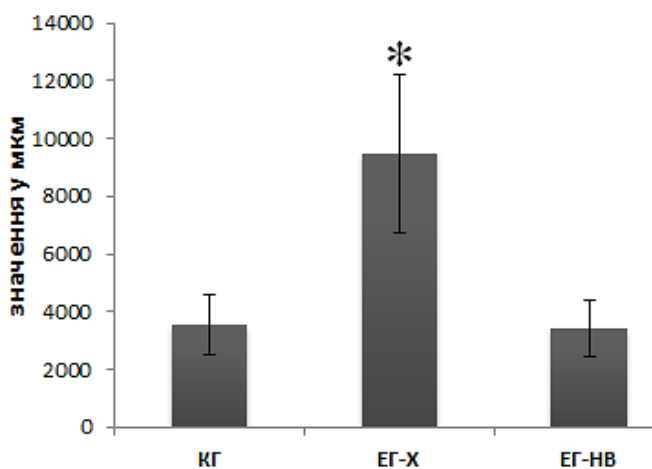


Рис. 11. Характеристика площі епітелію дистальних ниркових каналців зародків 20-денного строку інкубації у контрольній групі (КГ), групі із введенням хризотилового азбесту (ЕГ-Х) і групі із введенням нановолокон (ЕГ-НВ). *- $p < 0,05$ відносно показників у контрольній групі.

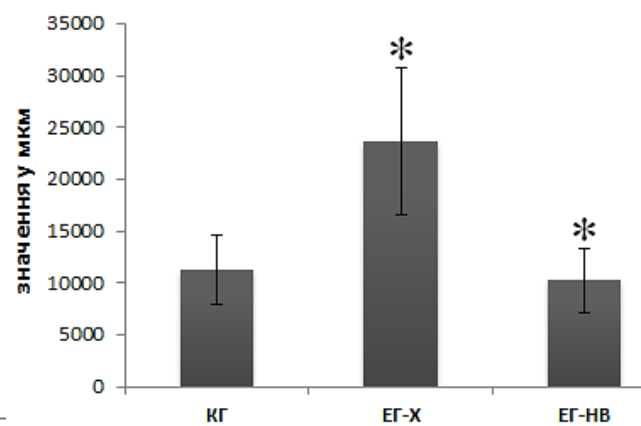


Рис. 12. Характеристика площі епітелію проксимальних ниркових каналців зародків 20-денного строку інкубації у контрольній групі (КГ), групі із введенням хризотилового азбесту (ЕГ-Х) і групі із введенням нановолокон (ЕГ-НВ). *- $p < 0,05$ відносно показників у контрольній групі.

Підсумовуючи результати досліджень вважаємо необхідним відмітити схожість впливу, який чинили амфіболові волокна та вуглецеві нановолокна на розвиток курячих зародків. Гістологічні та ультрамікроскопічні дослідження вказували на подібність впливу означених волокон на стінку судин, продемонстрували можливість поширення їх руйнівної дії до внутрішньоємбріонального кола кровообігу та виявили негативний вплив, який чинять волокна на клітини. Зауважимо, що дія нановолокон (у вигляді великих конгломератів) виявилась найбільш руйнівною, а вплив хризотилового азбесту спричиняв найменші альтерації серед досліджених волокнистих субстанцій.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено вирішення актуального завдання щодо визначення біологічних ефектів волокнистих токсикантів різної хімічної природи (волокон хризотилового та амфіболового азбесту і вуглецевих нановолокон) на ембріогенез курки. На основі отриманих результатів відмічено, що найбільш подібний вплив чинили волокна амфіболу та вуглецеві нановолокна. Вплив волокон хризотилу виявився менш уражуючим, ніж дія амфіболового азбесту, проте у роботі наведено морфологічні докази спроможності хризотилу викликати дистрофічні та некротичні зміни в тканинах. У роботі задокументовані специфічні для кожного виду інтродукованих волокон альтерації, які в подальшому сприятимуть обґрунтуванню морфологічних індикаторів токсичності та можуть бути задіяними в розробці концепції з оцінки безпечності волокнистих наноматеріалів.

1. При аналізі якісного стану розвитку зародків курки виявлено, що всі види інтродукованих волокон підвищують рівень смертності (9,09% – у контрольній групі, 47,37% у групі із введенням хризотилу), при цьому найбільш наближені числові значення показників спостерігались у експериментальних групах із введенням амфіболового азбесту та вуглецевих нановолокон (72,41% і 68,57% відповідно).

2. Виявлено морфологічні докази шкідливого впливу хризотилу для організму: агрегація формених елементів крові, внутрішньосудинний гемоліз еритроцитів, набряки інтерстицію, білкова та жирова дистрофії гепатоцитів, утворення кальцифікатів у просвіті ниркових каналців.

3. Встановлено, що амфібол здатен зумовлювати дистрофічні та некротичні зміни кардіоміоцитів, хондроцитів, гепатоцитів, клітин нейроглії, призводити до руйнування стінок судин, спричиняти крововиливи у тканини зародків курки, таким чином, викликаючи масштабні порушення та загибель зародків вже після їх короткотривалої взаємодії із амфіболовими волокнами.

4. Встановлено, що біосумісність нановолокон може залежати від ступеня агрегації волокон у конгломерати: чим більші такі скупчення нановолокон, тим вони небезпечніші для біологічних систем (задокументовані вакуолізація клітин, ядерний поліморфізм з конденсацією хроматину, руйнація ядер (каріорексис), які призводили до значних порушень гістоархітекtonіки органів). Відмічено, що руйнівний ефект агрегованих у великі конгломерати нановолокон виразніший ніж дія амфіболового азбесту.

5. Виявлено морфологічні ознаки подібності цитотоксичної дії вуглецевих нановолокон та волокон амфіболу (ушкодження плазмалеми клітин). Також задокументовані специфічні для кожного виду означених волокон ультраструктурні порушення: вакуолізація цитоплазми, набряк та дезорганізація крист мітохондрій (у групі із введенням амфіболу); дезорганізація міжклітинних контактів, поява внутрішньоклітинних розривів,

утворення темних включень в мітохондріях (у зародків із введенням нановолокон).

6. Наведено докази поширення введених волокон в організмі зародків через кровоносну систему та продемонстровано, що усі види інтродукованих волокон, маючи унікальними механізмами впливу на компоненти серцево-судинної системи, в результаті призводили до значного їх ураження.

7. Задokumentовано, що всі види волокон викликали порушення гістоархітекtonіки печінкових часточок (введення хризотилу спричинило дистрофії гепатоцитів та порушення секреції і відтоку жовчі, введення амфіболу – некробіотичні та некротичні альтерації гепатоцитів із руйнуванням гемосудин; введення нановолокон – значні пошкодження гепатоцитів із реакцією кровоносного русла або без неї).

8. Вплив волокон на структури нирок проявлявся ураженням переважно епітелію каналців нефронів. Введення хризотилу спричинило найбільші зміни: спостерігалось збільшення площі епітелію проксимальних каналців більш ніж у 2 рази, дистальних – у 2,5 рази порівняно з контрольною групою.

9. Волокнисті матеріали чинять значний тератогенний вплив на курячі ембріони, зародки із маленькими розмірами складають 52,63 %, 82,76 % і 60 % відповідно у групах із застосуванням хризотилового, амфіболового азбесту та нановолокон.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Зінабадінова С. Використання курячих ембріонів для визначення біологічних ефектів, спричинених дією азбесту та вуглецевих нановолокон / С. Зінабадінова, Т. Сегеда // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія – 2014. – 3(68). – С. 67–71. *(Здобувачем особисто проведене макроскопічне дослідження зародків; документування патологій, статистична обробка та інтерпретація результатів, формулювання висновків та підготовка матеріалів до друку).*

2. Зінабадінова С. С. Особливості структурно-функціонального стану нирок курячих ембріонів при дії волокон азбесту та вуглецевих нановолокон / С. С. Зінабадінова, Ю. Б. Чайковський, Т. П. Сегеда // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. – 2015. – 2 (19). – С. 79–81. *(Здобувачем особисто проведено експериментальну роботу, статистичну обробку та інтерпретацію результатів, формулювання висновків та підготовку матеріалів до друку).*

3. Зінабадінова С. С. Особливості структурно-функціонального стану печінки курячих ембріонів при дії волокон азбесту та вуглецевих нановолокон / С. С. Зінабадінова // Вісник проблем біології та медицини. – 2015. – Вип. 2, Т. 1 (118). – С. 265–269.

4. Zinabadinova S.S. A novel biocompatibility test for disperse materials / V. P. Tereshchenko, L. V. Degtiariova, T. P. Segeda, O. N. Ivanova, S. S. Zinabadinova, V. E. Lavrinenko // Journal of preclinical and clinical research. – 2015. – 9 (1). – P. 67-69. *(Здобувачем особисто проведене макроскопічне, гістологічне*

дослідження зародків щодо визначення впливу азбесту на ембріогенез курки; документування патологій, викликаних дією азбесту; здійснена інтерпретація результатів, отриманих у групі із введенням азбесту; формулювання висновків щодо біологічних ефектів азбестових волокон).

5. Зінабадінова С.С. Влияние наноалмазов и углеродных нановолокон на выживаемость и ультраструктуру клеток куриных эмбрионов / В. Е. Лавриненко, С. С. Зінабадінова, Ю. Б. Чайковский, Л. М. Сокурено, Л. Б. Шобат // *Georgian Medical News*. – 2016. – № 6 (255). – С. 93–99. (Здобувачем особисто здійснено інформаційний пошук щодо вивчення дії вуглецевих нановолокон на живі організми; участь у розробці методології експерименту; макроскопічне, гістологічне дослідження зародків щодо визначення впливу вуглецевих нановолокон на ембріогенез курки, статистична обробка отриманих даних; інтерпретація результатів, отриманих у групі із введенням вуглецевих нановолокон; формулювання висновків щодо біологічних ефектів вуглецевих нановолокон).

6. Зінабадінова С.С. Тератогенні ефекти різних класів наноматеріалів / В. Є. Лавриненко, С. С. Зінабадінова // *Український науково-медичний молодіжний журнал*. – 2010. – Вип. 3. – С. 57. (Здобувачем особисто проведено експериментальну роботу, статистичну обробку та інтерпретацію результатів, формулювання висновків та підготовку матеріалів до друку).

7. О вероятной повреждающей роли наночастиц у пострадавших от чернобыльской катастрофы / В. А. Сушко, В. П. Терещенко, С. С. Зінабадінова, В. Е. Лавриненко // *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. – 2012. – №17. – С. 308-316. (Здобувачем особисто проведено експериментальну роботу, статистичну обробку результатів та підготовку матеріалів до друку).

Тези наукових доповідей

8. Зінабадінова С. С. Тератогенні ефекти азбесту: результати досліджень на курячих ембріонах / С. С. Зінабадінова // *Матеріали ІХ наукової конференції студентів та молодих науковців в Україні, 23-26 березня 2009 р.: матеріали конференції*. – Київ, 2009. – С. 50.

9. Лавриненко В. Є. Морфологічна верифікація впливу нанорозмірних об'єктів на живі організми / В. Є. Лавриненко, С. С. Зінабадінова // *Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання сучасної патоморфології», 4-5 жовтня 2012: матеріали конференції*. – Київ, 2012. – С. 108.

10. Зінабадінова С. С. Свідчення патогенного впливу хризотилового азбесту на живі організми / С. С. Зінабадінова // *ІХ конгрес патологів України «Актуальні проблеми патології», 15-17 травня 2013: матеріали конгресу*. – Луганськ, 2013. – С. 186

АНОТАЦІЯ

Зінабадінова С.С. Біологічний вплив волокнистих токсикантів різної хімічної природи на курячі ембріони – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2016.

У дисертації представлено огляд біологічних ефектів волокнистих матеріалів різної хімічної природи. Виявлено морфологічні ознаки шкідливого впливу хризотилу (агрегація формених елементів крові, внутрішньосудинний гемоліз еритроцитів, набряки інтерстицію, білкові та жирові дистрофії гепатоцитів, утворення кальцифікатів у просвіті ниркових каналців). Амфібол спровокував дегенеративні та некротичні зміни в кардіоміоцитах, хондроцитах, гепатоцитах, гліальних клітинах; призводив до руйнування стінок кровоносних судин, спричиняв крововиливи в тканинах ембріонів. Більші за розміром кластери нановолокон виявились найбільш небезпечними для біологічних систем. Задokumentовані вакуолізації клітин, ядерний поліморфізм з конденсацією хроматину, руйнації ядер (каріорексис).

Ключові слова: хризотиловий азбест, амфіболовий азбест, вуглецеві нановолокна, біологічні ефекти, біосумісність.

АННОТАЦІЯ

Зинабадинова С.С. Биологическое влияние волокнистых токсикантов различной химической природы на куриные эмбрионы. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11 – цитология, клеточная биология, гистология. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2016.

В диссертации приведен обзор биологических эффектов волокнистых материалов разной химической природы: хризотилового и амфиболового асбеста, углеродных нановолокон. Очевидное структурное сходство волокон асбеста и углеродных нановолокон вполне закономерно обращает на себя внимание. В последнее время все больше и больше исследователей работают над проблемой сравнения их биологического действия на ткани и органы живых организмов.

Эксперимент осуществлен на куриных эмбрионах. Объектам на третьи сутки инкубации (сроки обусловлены закономерностями развития кровеносной системы) вводили суспензии на биосовместимом декстране волокон асбеста и углеродных нановолокон. В качестве биологической модели были использованы куриные эмбрионы. Применение этого метода позволило выявить тератогенные эффекты действия волокнистых материалов, изучить их биосовместимость.

В работе приводятся доказательства распространения волокон через кровеносную систему. Установлено, что все типы волокон, обладая уникальными механизмами влияния на компоненты сердечно-сосудистой системы, в результате приводили к значительным её повреждениям.

При анализе качественных показателей развития эмбрионов было выявлено, что все типы введенных волокон вызывали увеличения уровня смертности в своих группах. Наиболее приближенные числовые значения по

данному параметру наблюдались в группах с введением амфиболового асбеста и нановолокон.

Для хризотилового асбеста продемонстрировано менее выраженное негативное влияние, чем для амфиболового. Однако, были задокументированы многочисленные морфологические проявления патологии, вызванные действием хризотила: агрегация клеток крови, внутрисосудистый гемолиз эритроцитов, интерстициальный отек, белковые и жировые дистрофии в печени, образование кальцинатов в просветах почечных канальцев. Таким образом, хризотил является крайне опасным для живых организмов.

Амфибол вызывал дегенеративные и некротические изменения в кардиомиоцитах, хондроцитах, гепатоцитах, глиальных клетках. В кровеносной системе после введения амфиболовых волокон наблюдалось разрушение стенок кровеносных сосудов, индукция кровоизлияний в ткани. Таким образом, амфиболовый асбест стимулировал значительные деструктивные процессы уже после кратковременного воздействия на организм куриного эмбриона.

Биосовместимость нановолокон зависела от степени их агрегации в конгломераты: чем большими были такие скопления нановолокон, тем более негативное действие они оказывали на компоненты живого организма (наблюдались вакуолизации клеток, ядерный полиморфизм, конденсация хроматина, кариорексис).

Ключевые слова: хризотилковый асбест, амфиболовый асбест, углеродные нановолокна, биологические эффекты, биосовместимость.

ANNOTATION

Zinabadinova S.S. The biological effect of fibrous toxins of different chemical nature in chicken embryos. – Manuscript.

Thesis for obtaining the scientific degree of Candidate of Biological sciences in speciality 03.00.11 – cytology, cell biology, histology. – Taras Shevchenko National University of Kyiv Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2016.

The dissertation gives an overview of biological effects of fibrous material with different chemical speciation. Chrysotile showed aggregation of blood cells, intravascular hemolysis of red blood cells, interstitial edema, proteinosis and hepatic steatosis, the formation of calcifications in the lumen of the renal tubules. Amphibole caused degenerative and necrotic changes in cardiomyocytes, chondrocytes, hepatocytes, glia cells; destroyed walls of blood vessels, induced bleeding into the tissues of embryos. The bigger clusters of nanofibers were more dangerous for biological systems. Vacuolization of cells, nuclear polymorphism, chromatin condensation, nuclear destruction (karyorhexis) were demonstrated to conjugated nanofibers.

Key words: chrysotile asbestos, amphibole asbestos, carbon nanofibers, biological effects, biocompatibility.