

Д. М. ПИЛИПЕНКО, М. А. РАКІТЯНСЬКА, А. І. КОМАРОВ

ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ТЕСТ-СИСТЕМИ НА ОСНОВІ *PARAMECIUM CAUDATUM* ДЛЯ КОНТРОЛЮ ТОКСИЧНОСТІ ТА АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

Розробка ефективних експрес-методів біотестування є актуальною задачею сучасної біотехнології. Біотестування полягає у реєстрації різниці між виживанням або здатністю до розмноження тест-об'єктів у досліджуваному і контрольному зразках. Перевагою біотестування є швидкість та простота проведення дослідження. В якості тест-об'єктів використовують ряд організмів природної екосистеми (рослини та тваринні, одноклітинні та багатоклітинні організми). Одноклітинні інфузорії виду *Paramecium caudatum* є поширеним тест-об'єктом завдяки високій чутливості до змін навколишнього середовища; великим розмірам клітини, що забезпечує можливість спостереження за змінами морфології та руху клітини; простоті культивування. Ці характеристики *Paramecium caudatum* сприяють їх застосуванню в фундаментальних дослідженнях, у сфері екологічного контролю, а також для оцінки токсичності продуктів промисловості. Ступінь токсичного впливу досліджуваних речовин на *Paramecium caudatum* можна оцінити задовго до загибелі за різними реакціями клітин (зміна морфології та характеру руху). Перспективним є використання даної моделі у фармації. Застосування *Paramecium caudatum* для первинної оцінки біологічної активності антиоксидантних лікарських речовин дозволяє вирішити біоетичні питання, пов'язані із використанням лабораторних тварин. Дана модель продемонструвала свою ефективність для вивчення антиоксидантної активності ліпосомальних препаратів. Встановлено, що ліпідний склад ліпосомальних препаратів впливає на виживання культури у хронічному досліді. Антиоксидантна активність досліджуваних препаратів в дозі 50 мкг/мл зростала в ряду убіхінон<куркумін<кверцетин.

Ключові слова: біотестування; інфузорії; *Paramecium caudatum*; оцінка токсичності; антиоксидантна активність; ліпосомальні препарати.

Д. М. ПИЛИПЕНКО, М. А. РАКИТЯНСКАЯ, А. И. КОМАРОВ

ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ *PARAMECIUM CAUDATUM* ДЛЯ КОНТРОЛЯ ТОКСИЧНОСТИ И АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ

Разработка эффективных экспрес-методов биотестирования является актуальной задачей современной биотехнологии. Биотестирование заключается в регистрации разницы между выживанием или способностью к размножению тест-объектов в исследуемом и контрольном образцах. Преимуществом биотестирования является скорость и простота проведения исследования. В качестве тест-объектов используют ряд организмов природной экосистемы (растительные и животные, одноклеточные и многоклеточные организмы). Одноклеточные инфузории вида *Paramecium caudatum* являются распространенным тест-объектом благодаря высокой чувствительности к изменениям окружающей среды; большим размерам клетки, что обеспечивает возможность наблюдения за изменениями морфологии и движения клетки; простоте культивирования. Эти характеристики *Paramecium caudatum* способствуют их применению в фундаментальных исследованиях, в сфере экологического контроля, а также для оценки токсичности продуктов промышленности. Степень токсического действия исследуемых веществ на *Paramecium caudatum* можно оценить задолго до гибели по различным реакциям клеток (изменение морфологии и характера движения). Перспективным является использование данной модели в фармации. Применение *Paramecium caudatum* для первичной оценки биологической активности антиоксидантных лекарственных веществ позволяет решить биоэтические вопросы, связанные с использованием лабораторных животных. Данная модель продемонстрировала свою эффективность для изучения антиоксидантной активности липосомальных препаратов. Установлено, что липидный состав липосомальных препаратов влияет на выживаемость культуры. Антиоксидантная активность исследуемых препаратов в дозе 50 мкг/мл возрастала в ряду убихинон<куркумин<кверцетин.

Ключевые слова: биотестирование; инфузории; *Paramecium caudatum*; оценка токсичности; антиоксидантная активность; липосомальные препараты.

D. PYLYPENKO, M. RAKITIANSKA, A. KOMAROV

SUBSTANTIATION OF THE USE OF BIOTECHNOLOGICAL TEST SYSTEM BASED ON *PARAMECIUM CAUDATUM* FOR CONTROL OF TOXICITY AND ANTIOXIDANT PROPERTIES

Development of effective rapid methods of biotesting is a relevant objective of modern biotechnology. Biotesting consists in recording the differences in test-objects survival or capability for reproduction of them in test and control samples. The advantages of biotesting are rapidity and simplicity of the study. A number of organisms of natural ecosystem (plants and animals, unicellular and multicellular organisms) are used as test-objects. *Paramecium caudatum* is a unicellular infusoria widely used as test-object due to high sensitivity to environmental changes; big cell size, which makes it possible to monitor changes in morphology and mobility of the cells; easy cultivation. These characteristics of *Paramecium caudatum* facilitate the application of them in fundamental research, in the field of environmental control, as well as in toxicity assessment of industrial products. The toxicity degree of investigated substances on *Paramecium caudatum* can be easily evaluated well before the cell death by various cell responses (changes in morphology and mobility). Application of this model in pharmacy is promising. The use of *Paramecium caudatum* for initial assessment of biological activity of antioxidant preparations makes it possible to solve bioethical issues related to the use of laboratory animals. The model has been shown to be effective in studying the antioxidant activity of liposomal preparations. It was found that the lipid composition of the liposomal preparations affects the survival of the culture. The antioxidant activity of the investigated preparations at a dose of 50 µg/ml increased as follows ubiquinone<curcumin<quercetin.

Keywords: biotesting; infusoria; *Paramecium caudatum*; toxicity assessment; the antioxidant activity; liposomal preparations.

© Д. М. Пилипенко, М. А. Ракітянська, А. І. Комаров, 2020

На кафедрі біотехнології, біофізики та аналітичної хімії НТУ «ХПІ» проводяться роботи з розробки та вивчення фізико-хімічних та фармакологічних властивостей ліпосомальних препаратів. Для проведення дослідження фармакологічної активності використовують лабораторних тварин (щурів, мишей та ін.). Ці дослідження потребують спеціально облаштованого віварію, крім того вартість тварин та їх утримання висока, що диктує необхідність розробки тест-системи для первинного скринінгу токсичності та антиоксидантної активності досліджуваних препаратів.

Принцип біотестування заснований на адаптації тест-організмів до змін умов навколишнього середовища [1]. Суть методів полягає у реєстрації різниці між виживанням або здатністю до розмноження тест-культур у досліджуваному і контрольному середовищах. Методики біотестування досить прості, не вимагають дорогого спеціального обладнання, інформативні та є перспективними експрес-тестами.

Для біотестування використовують ряд біооб'єктів – представників природної екосистеми: кишковопорожнинні – прісноводна гідра (*Hydra attenuata*), риби – Даніо реріо (*Brachidanio rerio*), рослини – озима пшениця (*Triticum durum*), одноклітинні: інфузорії (*Paramecium caudatum* (*P.c.*), *Tetrahymena pyriformis*), зелені водорості (*Chlorella vulgaris*) та ін. [1, 2]. Розроблені національні та міжнародні стандарти проведення біотестування за допомогою рачків (*Daphnia magna*, *Ceriodaphnia affinis*) і *P.c.* [3, 4, 5]. Аналіз проводиться на основі росту популяції тест-культури та порівняння її реакції на збільшення концентрації біологічно активних речовин у дослідних пробах [6]. Критерієм визначення токсичності є час від початку впливу досліджуваного матеріалу до загибелі тест-об'єкта, факт якої констатують на підставі повного припинення руху та наявності ознак розпаду клітин.

Вибір біооб'єкту визначається його чутливістю. Так, при тестуванні стічних і забруднених природних вод не виникає труднощів з отриманням чіткої і достовірної відповіді тест-організмів на токсичність водного середовища. Водночас визначення якості води з низьким рівнем забруднення або питної води можливо тільки за допомогою чутливих маркерних функцій, зміни яких при дії несприятливих чинників починаються задовго до загибелі тест-об'єкта [1, 2].

***Paramecium caudatum* як тест-об'єкт.** Серед тест-організмів, які використовуються у біотестуванні, широко використовують інфузорії *P.c.* – одноклітинні організми розміром $0,3 \times 0,05$ мм, що представляють мікрофлору прісноводних водойм. Основною їжею для *P.c.* є бактерії. В лабораторних умовах *P.c.* культивують на середовищі Лозина-Лозинського, використовуючи у якості підкормки дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* [7-9] або *Rhodotorula gracilis* [10, 11], альтернативним джерелом харчування є сінний відвар, зерна злакових культур [5, 12, 13], ґрунтові та водні бактерії, наприклад *Klebsiella pneumoniae* [14, 15]. Оптимальною температурою для росту культури є 20-25 °С. *P.c.* виживає при широкому

діапазоні значень рН – от 4,7 до 9,7, однак оптимальним є більш кислий рН (4,7-6,7), що обумовлено їх природним середовищем проживання [16, 17]. Внутрішньоклітинний рН – 6,80. Також встановлено, що виживання культури вище в умовах нестачі кисню [16]. Розмноження відбувається шляхом ділення 1-2 рази на добу. Характерною рисою є кон'югація – форма статевого процесу, при якій відбувається обмін гаплоїдними статевими ядрами, що утворюються з мікронуклеусів двох клітин.

P.c. є чутливим біооб'єктом, що пов'язано з наявністю війок, які розташовані по всій поверхні клітини і виконують роль хеморецепторів, що реагують на розчинені хімічні речовини. *P.c.* знаходяться у постійному русі, тому легко спостерігати найменші зміни руху під впливом шкідливого фактора [18]. Рухова активність *P.c.* багато в чому формується на основі роботи іонних каналів, вбудованих у мембрану війок, і є характеристикою, що відображає функціональний стан клітини. При цьому *P.c.* функціонує у напрямі збереження мембранного потенціалу. В результаті зниження мембранного потенціалу клітини рухаються повільніше або обертаються на місці навколо одного кінця [10].

Інфузорії *P.c.* мають дві скоротливі вакуолі. Вакуолі поперемінно скорочуються по мірі наповнення їх рідиною з продуктами обміну речовин і викидають вміст у навколишнє середовище через екскреторну пору. Тривалість інтервалу між двома скороченнями вакуолей (частота пульсації) залежить від температури навколишнього середовища. При додаванні в середовище токсичної речовини вона негайно надходить всередину інфузорії, оскільки всмоктування відбувається всією поверхнею клітини. Токсичні речовини, що надійшли всередину клітини, порушують її життєдіяльність, що позначається і на видільній системі, число скорочень видільних вакуолей зменшується аж до повної блокади їх функцій. При повному припиненні скорочень вакуолі переповнюються продуктами обміну, їх об'єм значно збільшується. Наступним етапом згубної дії токсину на *P.c.* при його високій концентрації у середовищі є грубі морфологічні зміни у клітинній стінці у вигляді множинних округлих виростів («вакуолізація» клітинної стінки), які потім розриваються і вміст клітини (ендоплазма) виходить у навколишнє середовище [19]. За здатністю підвищувати толерантність *P.c.* до клітинних отрут під впливом досліджуваних речовин можна опосередковано робити висновок про їх адаптогенну активність [18].

Таким чином, *P.c.* як тест-організм має ряд переваг:

- поєднання як ознак окремої еукаріотичної клітини, так і самостійного організму;
- висока чутливість до змін навколишнього середовища;
- можливість фіксувати зміни морфологічних ознак клітини, рухливість, ріст, виживання культури, отримуючи кількісні показники;
- короткий життєвий цикл дає можливість простежити реакцію на досліджувану речовину в ряду

покоління;

- прості умови культивування, невибагливість і швидка адаптація до змін умов навколишнього середовища;

- можливість проведення експрес контролю;
- економічність проведення дослідження.

Ступінь токсичності досліджуваної речовини можна оцінити відразу після її введення за такими реакціями клітин: зміна швидкості та траєкторії руху; позитивний або негативний хемотаксис; зміна ритму скорочень вакуоль; вакуолізація цитоплазми; формування бульбашок на клітинній мембрані (блебінг клітин); порушення рухової здатності війок; активація трихоцист; зупинка цитокінезу; зміни морфології клітин [20].

***Paramecium caudatum* в фундаментальних дослідженнях.** Завдяки досить великим розмірам, можливості спостерігати за органелами, поширеності у природі та простоті культивування, *P.c* є зручним об'єктом для вивчення фізіології та генетики еукаріотів, екологічних досліджень та оцінки ризиків [21]. На моделі *P.c* проведено вивчення електричного потенціалу клітинної мембрани [22], вивчення впливу екзогенних ферментів і високоенергетичних речовин на АТФ-регенеруючі системи у війках *P.c* [23], вивчення мінливості мітохондріальної ДНК еукаріот [24], вивчення токсичності та біоаккумуляції наноматеріалів у харчовому ланцюжку [25].

Перспективним є використання *P.c* як вектора – проміжного хазяїна бактерій, які колонізуються в кишечнику (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae*, *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium chelonae* та ін.), для ефективного зараження личинок риб Данію, які є об'єктом для вивчення кишкової інфекції [26, 27].

P.c поширені по всій земній кулі, що робить їх зручним об'єктом для вивчення глобальних екологічних процесів. Порівняння температурної адаптації *P.c* з різних районів проживання (Європа, Азія), дозволило авторам говорити про те, що найменш чутливі до глобального потепління популяції, що мешкають в тропіках [28]. *P.c* використовували як тест-об'єкт для вивчення тандемного впливу кількох екологічних факторів (абіотичного та біотичного) на популяцію, щоб оцінити можливість прогнозування змін на рівні популяції [13, 29].

***Paramecium caudatum* для оцінки токсичності.** Висока чутливість *P.c* до токсинів дозволяє використовувати їх для оцінки потенційних екологічних ризиків використання пестицидів, їх впливу на прісноводний протозоопланктон [30, 31]. *P.c* успішно використовували як модельний організм для порівняльної оцінки зоотоксичності біогербіцидів – вторинних метаболітів гриба *Alternaria sonchi* [32], при вивченні біоінсектициду, отриманого зі штаму ґрунтових бактерій *Bacillus thuringiensis* [21]. Токсичність виявлялася у морфологічних змінах, фрагментації, вакуолізації та повній дифузії макро-нуклеусу, деформації клітини в цілому, що супроводжувалась укороченням поздовжньої осі та почорнінням цитоплазми [21]. Вивчено токсичний

вплив деяких кормів для риб та сільськогосподарських тварин на організми протозойної ланки [33].

Запропоновано спосіб визначення токсичності повітря на основі визначення комплексного впливу токсикантів, що містяться в повітрі, на культурі *P.c* [34]. Оцінку токсичності зразків повітря поводять за відносною різницею концентрацій клітин *P.c* у верхніх шарах рідини в кюветках із досліджуваними і контрольними зразками за допомогою імпульсної фотометрії з визначенням індексу токсичності. В роботі [35] проведено аналіз токсичності ґрунту на моделі *P.c*.

Багатообіцяючими є системи біоочистки, оскільки вони можуть видаляти завислі органічні речовини та бактерії мікро- і нанорозмірів. Виявлено потенціал безхребетних видів *P.c* і *Daphnia magna* у боротьбі із забрудненням міських стічних вод [36].

Нанотехнології дозволяють надавати речовинам нові властивості, відмінні від вихідних матеріалів, що потребує вивчення впливу наноматеріалів на навколишнє середовище, в тому числі на клітини еукаріот. Вивчено токсичний ефект наночастинок срібла на модельному одноклітинному еукаріотичному організмі *P.c*. Отримані результати демонструють, що наночастинок срібла не проявляють токсичної дії на моделі *P.c* нижче концентрації 25 мг/л, тоді як іони срібла зберігають свою токсичність навіть при концентрації 0,4 мг/л [37].

Наночастки магнетиту в даний час регулярно використовуються в якості контрастної речовини в магнітно-резонансній томографії *in vivo*, в імунодіагностиці, як засіб доставки лікарських засобів та ін. На культурі *P.c* не спостерігалось виражених токсичних ефектів при тривалому культивуванні, при цьому, наночастинок акумулювалися в клітинах *P.c* у вигляді включень [38].

Вивчена токсичність глиняних наноматеріалів (монтморилоніту, галуазиту, каоліну, бентоніту, кремнезему та оксиду графену) за допомогою мікроскопії в темному полі [8]. При цьому авторами зафіксовано зміни таких біохімічних показників клітин *P.c*, як вміст малонового діальдегіду та каталази в клітинному гомогенаті, що свідчить про розвиток оксидативного стресу.

Вивчено вплив перфторорганічних сполук, які широко застосовуються у промисловості як поверхнево-активні речовини, на утворення активних форм кисню і пошкодження ДНК еукаріот. На моделі *P.c* показано не тільки ступінь токсичності досліджуваних речовин, але й оборотність пошкодження клітини за допомогою антиоксиданту – глутатіону [15].

Запропонована тест-система на основі одноклітинних *P.c* і *Blepharisma japonicum* для оцінки косметичних засобів. Використання такої тест-системи дозволяє швидко і без великих фінансових витрат оцінити токсичність компонентів і продукту в цілому, без використання лабораторних тварин [39].

Безперечною перевагою використання *P.c* є можливість автоматизації біотестування [6, 12, 34, 40-

42], наприклад, за допомогою приладу «Біолат» [5, 6], принцип роботи якого полягає в програмній обробці зображення лунок з інфузоріями і пробами для підрахунку живих *P.c.* Лунки поміщаються під об'єктиви двох відеокамер відповідно до запрограмованих алгоритмів. Після підрахунку кількості клітин у часі по кожній пробі обчислюються відносні кількості тест-організмів, що вижили, і відповідно до прийнятих критеріїв оцінюється ступінь безпеки досліджуваного продукту. Критерії для оцінки отриманих результатів пропонуються в процесі розробки методики і, як правило, такі критерії мають 3-4 градації: дуже токсичний, токсичний, слаботоксичний і нетоксичний об'єкт. Прилад містить два ряди лунок: зовнішній призначений для підрахунку дрібних тест-організмів, таких як *Tetrahymena pyriformis*, а внутрішній – для великих, таких як *P.c.* За допомогою цього приладу проведена оцінка антиоксидантних властивостей і токсичності харчових добавок.

В роботі [12] вивчення хемотаксису *P.c.* проводять за допомогою двох сполучених камер, в одну з яких поміщають *P.c.*, а в іншу – досліджувану речовину, порівнюючи перехід клітин з першої камери в другу. Як модельний аттрактант використовують, наприклад, дріжджі. Розроблено автоматизовану систему для вивчення гальванотаксису *P.c.* [42]. Використання флуорисцентних міток дозволяє оцінити біоаккумуляцію та метаболізм наноматеріалів у клітині *P.c.* [12, 41].

***Paramecium caudatum* у фармації.** *P.c.* як тест-культура знайшла широке застосування у фармацевтичних дослідженнях завдяки високій чутливості до мінімальних змін навколишнього середовища, що дозволяє проводити оцінку токсичності низьких доз лікарських препаратів (10^{-11} - 10^{-8} моль/л) [2].

Оцінка цитотоксичності комплексів платини і паладію методом біотестування на *P.c.* і МТТ-тесту, що оцінює метаболічну активність клітин, на клітинах епідермоїдної карциноми (A431) і кератиноцитах (HaCaT) людини, показала, що клітини *P.c.* є більш чутливими до даних цитотоксичних комплексів, ніж клітинні лінії людини. Додавання цитостатика в середовище, яке містить культуру *P.c.*, відразу ж призвело до негативного хемотаксису, різкого збільшення швидкості руху клітин і дискінезії війок, з подальшим збільшенням частоти пульсації скоротливих вакуолей, активації трихоцист, деформації клітини, вакуолізації цитоплазми, що в підсумку призвело до розриву клітинної мембрани та загибелі клітин *P.c.* [20].

Розроблено чутливий метод оцінки токсичності бактеріальних антигенів збудників важких інфекційних захворювань (меліоїдозу (*Burkholderia pseudomallei*); сапу (*Burkholderia mallei*); чуми (*Yersinia pestis*); холери (*Vibrio cholerae*)) на інфузоріях *P.c.* за пригніченням їх видільної функції [19, 43]. За токсичну концентрацію приймають концентрацію антигену, яка знижує на 50% число скорочень видільних вакуолей порівняно з контролем. Показано, що за чутливістю метод визначення токсичності на *P.c.* близький до тестування на клітинних лініях яєчників китайського хом'ячка (СНО

К-1) і фібробластів миші (L-929), однак відрізняється простотою, доступністю, можливістю визначати токсичні дози, які порушують життєдіяльність клітин, але не призводять до їх загибелі.

Вивчено вплив природної ефірної олії троянди та її біотехнологічного аналогу, одержаного на основі штаму *Eremothecium ashbyi*, на культуру *P.c.* [44]. На думку авторів, більш висока токсичність еремотецевої олії пов'язана з переважаанням в її складі монотерпенолів.

Останнім часом велика увага приділяється первинній оцінці фармакологічного ефекту різних препаратів з використанням тесту *in vivo*, зокрема із застосуванням найпростіших. Експерименти [17, 45] показали, що реакції одноклітинних гідробіонтів ефективні для отримання первинної інформації про цитотоксичність солей важких металів, перекисів та інших індукторів перекисного окислення ліпідів. Вивчення індукованого перекисного окислення ліпідів і активності антиоксидантних сполук на водних організмах мають важливе діагностичне значення. Дослідниками широко використовуються інфузорії виду *P.c.* для первинної оцінки антиоксидантної, мембраностабілізуючої, адаптогенної активності різних лікарських препаратів [18, 46, 47].

Рядом авторів використовується модель оксидативного стресу *P.c.*, індукованого солями важких металів – Cu, Pb, Zn, Cd в концентрації 10 мкМ [17, 45]. Показано, що за токсичною дією на цитоплазматичну мембрану *P.c.* іони металів можна розташувати наступним чином: $Cu^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$. Встановлено, що ці речовини викликають дозозалежне зниження чисельності популяції *P.c.* Відомо, що важкі метали (Zn, Cd, Hg) призводять до змін активності антиоксидантних ферментів *P.c.*: супероксиддисмутази, пероксидази, каталази [48]. Однак, на фоні дії антиоксидантів (наприклад, аскорбінової кислоти) толерантність клітин до важких металів істотно зростає [49].

1% розчин перекису водню при прямому застосуванні порявляє біоцидну дію на клітину, викликаючи окисні процеси в клітинній мембрані. Також в якості пошкоджуючого фактора використовують 14% розчин етилового спирту, який пошкоджує білкові структури клітинної мембрани, а також гіпертонічний розчин натрію хлориду. Токсиканти викликають зупинку руху клітин *P.c.* не одразу, а протягом деякого часу. Речовини-протектори підвищують концентрацію токсикантів, що призводить до зупинки руху *P.c.*, тобто в їх присутності токсичний ефект розвивається в часовому інтервалі [10, 11, 18, 50, 51].

Оцінка інтегрованої дії препаратів олігопептидів (седатину, тимогену, неогену) на живу клітину на моделі *P.c.* проводилася за такими критеріями: виживання клітин при 24-годинній інкубації з досліджуваними речовинами, підвищення стійкості до токсичного агента (гіпертонічний розчин натрію хлориду), стимуляція ділення клітин при інкубації протягом 72 годин. На клітинному рівні синтетичні ди-, три- і пен-

тапептиди в концентраціях 0,001-1,0 мг/мл були не-токсичними для біосистеми, проявляючи дозозалежні протективні властивості [52].

На моделі оксидативного стресу *P.c.*, індукованого перекисом водню і етиловим спиртом, продемонстрований антиоксидантний і мембрано-стабілізуєчий ефект сульфоамінокислоти таурину – перспективний антиоксидант при цукровому діабеті [47].

В роботі [9] проведено вивчення цитопротекторних властивостей дипептидних міметиків фактору росту нейронів і мозкового нейтрофічного фактору. На моделі оксидативного стресу *P.c.*, викликаного солями важких металів дипептиди проявляли захисний ефект, практично повністю запобігаючи в концентрації 10^{-8} М загибелі клітин через 6 годин інкубування з солями важких металів.

Використання *P.c.* дозволяє вивчити біохімічні процеси, що відбуваються в еукаріотичній клітині при введенні активного фармацевтичного інгредієнту. Наприклад, було вивчено вплив оксиду азоту (NO) на фізіологію найпростіших при контакті з наркотичними речовинами [7]. Показано, що попередник NO посилює дію морфіну на клітку, а блокатор NO – нітроаргінін блокує дію морфіну. Наявність у *P.c.* як опіюїдних, так і нікотинових рецепторів дозволило використовувати їх для вивчення взаємного впливу нікотину і морфіну при їх спільному введенні [53]. Показано, що в клітинах еукаріот нікотин може посилювати дію морфіну.

Вибір оптимального складу багатокомпонентних фітопрепаратів вимагає ефективних експрес-методів оцінки їх дії [10, 54, 55]. Тест-система на основі *P.c.* використовується для вивчення біологічної активності рослинних екстрактів, що дозволяє провести порівняльну оцінку ряду композицій, визначити оптимальну кількість і співвідношення компонентів фітокомпозицій, не потребуючи великих економічних, часових і трудових витрат [10, 11, 50, 56, 57]. З цією метою проводять як хронічний дослід – зміна морфології, рухової активності, інтенсивності розмноження клітин при інкубації з досліджуваною композицією протягом тривалого періоду (3-7 діб), так і гострий дослід – збільшення тривалості життя *P.c.* під впливом модельних токсикантів. Крім того, виправдане використання *P.c.* для первинного скринінгу вирішує біоетичні проблеми використання експериментальних тварин.

На моделі *P.C.* проведена оцінка впливу різних способів консервування рослинної сировини (плодів обліпихи крушиновидної та листя кропиви дводомної) на збереження її біологічної активності [51].

P.c. використовують для вибору оптимальної основи для лікарських і косметичних засобів. Було показано, що фруктоза і сорбіт в якості основи для екстракту родіоли рожевої та лимонника поступаються за біологічною активністю цукровому сиропу простому [50]. Показано безпечність і біостимулююча активність дерматологічних засобів у хронічному досліді на *P.c.*, яка проявлялася в підвищенні інтенсивності розмноження клітин. А також проде-

монстрована більша біологічна активність препарату на гелевій основі, що забезпечує більшу біодоступність активних інгредієнтів, у порівнянні з кремовою основою [11].

Комплексне використання біотестування, наприклад, оцінка антибактеріальної активності фітокомпозицій на *Staphylococcus aureus* і токсичності на *P.c.* дозволяє оцінити мікробіологічну безпечність розроблених композицій [56].

Висока чутливість *P.c.* до найменших змін середовища робить їх перспективним об'єктом для вивчення продуктів нанофармації. В роботі [14] вивчено поглинання і локалізація в клітині *P.c.* вуглецевих нановолокон. Встановлено, що в низьких концентраціях (30-500 мкг/мл) вуглецеві нановолокна викликають дозозалежне інгібування проліферації, причому цей ефект був оборотним при видаленні їх із середовища.

Одним із завдань нанофармації є підвищення кількості лікарської речовини в клітині-мішені. Вивчення нанопрепаратів лікарських препаратів за допомогою *P.c.* представляє особливий інтерес, оскільки дозволяє оцінити підвищення біодоступності лікарської субстанції, включеної до складу наночастинок, на еукаріотичній клітині та пов'язане з цим підвищення ефективності та зниження ефективної дози активного фармацевтичного інгредієнта [56, 58]. В роботі [56] продемонстровано збільшення антиоксидантної (на 40,6%) і мембраностабілізуєчої (на 22,5%) активності ліпосомальних форм фітокомпозицій в порівнянні з традиційною формою.

Необхідно відмітити, що деякі види найпростіших здатні викликати серйозні захворювання, тому модельні види інфузорій (наприклад, *P.c.*, *Tetrahymena pyriformis* та ін.) можуть бути корисні для виявлення антипротозойних агентів [58].

Нами проводиться дослідження протективних властивостей ліпосомальних форм природних антиоксидантів на моделі *P.c.*: кверцетину, убіхінону, куркуміну, цитохрому С [59, 60]. Культивування *P.c.* здійснюється на середовищі Лозина-Лозинського із додаванням сухих дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Встановлено, що ліпідний склад препаратів впливає на виживання культури у хронічному досліді. Дана модель продемонструвала свою ефективність для вивчення антиоксидантної активності ліпосомальних препаратів. Під дією токсикантів спостерігалось уповільнення та зміна характеру руху, вакуоляризація цитоплазми, блебінг мембрани, деформація клітини в цілому, що призводило до повної зупинки та загибелі клітини. Під дією досліджуваних препаратів спостерігався дозозалежний ефект, який проявлявся у збільшенні часу збереження нормальної морфології та рухової активності клітини у порівнянні із контролем. Антиоксидантна активність досліджуваних препаратів в дозі 50 мкг/мл зростала в ряду убіхінон < куркумін < кверцетин. Таким чином, модель *P.c.* показала себе як ефективний, простий експрес-метод для первинної оцінки біологічної активності ліпосомальних форм антиоксидантних препаратів і є обґрунтованою заміною фармакологічним дослідженням із використанням лабораторних тварин на етапі скринінгу.

Список літератури

- Гончарук В.В., Коваленко В.Ф. Теоретические аспекты биотестирования природных и питьевых вод. *Химия и технология воды*. 2012. Т. 34, № 2. С. 171-178.
- Ryzhkina I.S., Kiseleva Y.V., Murtazina L.I., Kuznetsova T.V., Zainulgabidinov E.R., Knyazev I.V., Petrov A.M., Kondakov S.E., Kononov A.I. Diclofenac sodium aqueous systems at low concentrations: Interconnection between physicochemical properties and action on hydrobionts. *Journal of Environmental Sciences*. 2020. V. 88. pp. 177-186.
- ДСТУ 4173:2003. Визначення гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (*Cladocera, Crustacea*). Київ: Держспоживстандарт України, 2004. 17 с.
- ДСТУ 4174:2003. Визначення хронічної токсичності хімічних речовин та води на *Daphnia magna* Straus і *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (*Cladocera, Crustacea*). Київ: Держспоживстандарт України, 2004. 22 с.
- ГОСТ 31674-2012 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности. М.: Стандартинформ, 2014. 16 с.
- Черемных Е.Г., Кулешин А.В., Кулешина О.Н. Биотестирование пищевых добавок на инфузориях. Вестник РУДН. Сер.: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2011. Т. 3. С. 5-12.
- Karami M., Shahrokhi S. S., Kazemi B., Moezzi, S. S. A new approach for aggregation of *Paramecium caudatum* by nitric oxide. *Iranian journal of microbiology*. 2013. V. 5. № 1. pp. 91-98.
- Kryuchkova M., Danilushkina A., Lvovab Y., Fakhrollin R. Evaluation of toxicity of nanoclays and grapheme oxide in vivo: a *Paramecium caudatum* study. *Environmental Science: Nano*. 2016. V. 3. pp. 442-452.
- Карпущина О.В., Иноземцев А.Н., Гумаргалиева К.З. Цитопротекторные свойства дипептидных миметиков фактора роста нервов и мозгового нейротрофического фактора, ГК-2 и ГСБ-106, в модели окислительного стресса у инфузорий. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2018. Т. 4. С. 37-41.
- Володина Т. А. Обоснование оптимального состава композиций из растительных экстрактов с использованием биологического теста на парамециях. Омский научный вестник. 2012. Т. 2 № 114. С. 30-31
- Федоровська М. І., Половко Н. П., Стрілець О. П. Вивчення антиоксидантних властивостей дерматокосметичних засобів з ролінінними субстанціями на біологічній моделі *Paramecium caudatum*. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. Т. 2, № 55. С. 22-25.
- Mayne R., Morgan J., Whiting J., Phillips N., Adamatzky A. On measuring nanoparticle toxicity and clearance with *Paramecium caudatum*. *Scientific reports*. 2019. № 8957. 9 p. doi: 10.1038/s41598-019-45353-2
- Uiterwaal S. F., Lagerstrom I. T., Lühring T. M., Salsbery M. E., DeLong, J. P. Trade-offs between morphology and thermal niches mediate adaptation in response to competing selective pressures. *Ecology and evolution*. 2020. V. 10, № 3. pp. 1368-1377.
- Haga N., Haneda K. *Paramecium* as a bioassay system for elucidation of cytotoxicity and biocompatibility of nanoparticles: effects of carbon nanofibers on proliferation and survival. *Japanese Journal of Protozoology*. 2007. V. 40, № 2. pp. 113-121.
- Kawamoto K., Oashi T., Oami K., Liu W., Jin Y., Saito N., Sato I., Tsuda S. Perfluorooctanoic acid (PFOA) but not perfluorooctane sulfonate (PFOS) showed DNA damage in comet assay on *Paramecium caudatum*. *Journal of toxicological sciences*. 2010. V. 35, № 6. pp. 835-841.
- Heydarnejad M. S. Survival of *Paramecium caudatum* at Various pH Values and Under Normoxic and Hypoxic Conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2008. V. 11. pp. 392-397.
- Карпущина О. В., Гумаргалиева К. З., Иноземцев А. Н. Особенности кинетики роста культуры *Paramecium caudatum* в модели окислительного стресса. *Вестник Технологического Университета*. 2015. Т. 10. С. 9-11.
- Чистякова А. С., Сливкин А. И., Сорокина А. А., Оценка мембранстабилизирующего действия препаратов травы горца почечуйного. *Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация*. 2014. Т. 4. С. 140-143.
- Жукова С. И., Адельшин Ф. К., Храпова Н. П. Пат. 2281507, Российская федерация. *Способ оценки токсичности бактериальных антигенов*. 2006.
- Suezov R., Grishina P., Ponyaev A., Medvedskiy N., Eremin A. Relative cytotoxicity of complexes of platinum(II) and palladium(II) against pure cell culture *Paramecium caudatum* and human cell lines A431 and HaCaT. *Mediterranean Journal of Chemistry*. 2018. V. 7, № 1. pp. 28-38.
- Amanchi N. R., Hussain M. M. Cytotoxic effects of delfin insecticide (*Bacillus thuringiensis*) on cell behaviour, phagocytosis, contractile vacuole activity and macronucleus in a protozoan ciliate *Paramecium caudatum*. *African Journal of Biotechnology*. 2008. V. 7, № 15. pp. 2637-2643.
- Schlaepfer C. H., Wessel R. Excitable Membranes and Action Potentials in Paramecia: An Analysis of the Electrophysiology of Ciliates. *Journal of undergraduate neuroscience education : JUNE : a publication of FUN, Faculty for Undergraduate Neuroscience*. 2015. V. 14, № 1, pp. A82-A86.
- Kutomi O., Takemura M., Kamachi H., Noguchi M. Estimation of Effective Concentrations of ATP-Regenerating Enzymes in Cilia of *Paramecium caudatum*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2011. V. 59, № 1. pp. 49-53.
- Johri P., Marinov G. K., Doak T. G., Lynch M. Population Genetics of *Paramecium* Mitochondrial Genomes: Recombination, Mutation Spectrum, and Efficacy of Selection. *Genome biology and evolution*. 2019. V. 11, № 5, pp. 1398-1416.
- Gupta G. S., Kumar A., Senapati V. A., Pandey A. K., Shanker R., Dhawan A. Laboratory Scale Microbial Food Chain To Study Bioaccumulation, Biomagnification, and Ecotoxicity of Cadmium Telluride Quantum Dots. *Environmental science technology*. 2017. V. 51, № 3. pp. 1695-1706.
- Flores E., Thompson L., Sirisaengtaksin N., Nguyen A. T., Ballard A., Krachler, A. M. Using the Protozoan *Paramecium caudatum* as a Vehicle for Food-borne Infections in Zebrafish Larvae. *Journal of Visualized Experiments*. 2019. V. 143. e58949. doi:10.3791/58949
- Peterson T. S., Ferguson J. A., Watral V. G., Mutoji K. N., Ennis D. G., Kent M. L. *Paramecium caudatum* enhances transmission and infectivity of *Mycobacterium marinum* and *M. chelonae* in zebrafish *Danio rerio*. *Diseases of aquatic organisms*. 2013. V. 106, № 3. pp. 229-239.
- Krenek S., Petzoldt T., Berendonk T. U. Coping with temperature at the warm edge--patterns of thermal adaptation in the microbial eukaryote *Paramecium caudatum*. *PloS one*. 2012. V. 7, № 3. e30598. doi: 10.1371/journal.pone.0030598
- Yang J., Wei H., Yalin T., Alan W., Xiaofeng L., Jiqui, L. Combined effects of food resources and exposure to ammonium nitrogen on population growth performance in the bacterivorous ciliate *Paramecium caudatum*. *European journal of protistology*. 2019. V. 71. 125631. doi: 10.1016/j.ejop.2019.125631
- Mansano A. S., Moreira R. A., Pierozzi M., Oliveira T., Vieira E. M., Rocha O., Regali-Selegim M. H. Effects of diuron and carbofuran pesticides in their pure and commercial forms on *Paramecium caudatum*: The use of protozoan in ecotoxicology. *Environmental pollution*. 2016. V. 213, pp. 160-172.
- Yangora Y. M., Farooq S., Mustapha R. K., Savi M., Hamid H., Sonia H., Dutta J. Studies on the effect of chlorpyrifos (organophosphate) and cypermethrin (synthetic pyrethroid) on the growth of *Paramecium*. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. 2017. V. 10, № 1. pp. 290 - 294.
- Dalinova A., Chisty L., Kochura D., Garnyuk V., Petrova M., Prokofieva D., Yurchenko A., Dubovik V., Ivanov A., Smirnov S., Zolotarev A., Berestetskiy A. Isolation and Bioactivity of Secondary Metabolites from Solid Culture of the Fungus, *Alternaria sonchi*. *Biomolecules*. 2020. V. 10, 18 p. doi: 10.3390/biom10010081.
- Шадрин И.А. Токсикологический анализ некоторых кормов по реакции выживаемости инфузорий *Paramecium caudatum*. *Вестник КраСГАУ*. 2008. Т. 2. С. 128-134.
- Кожяева В. Б., Самсонов В. П. Пат. 2335770, Российская Федерация. *Способ определения токсичности воздуха по реакции инфузорий Paramecium caudatum*. 2008.
- Шадрин И.А. Оценка токсичности почв различных районов г. Красноярска по реакции выживаемости инфузорий *Paramecium caudatum*. *Вестник КраСГАУ*. 2007. Т. 3. С. 116-122.
- Shiny K.J., Remani K.N., Nirmala E., Jalaja T.K., Sasidharan V.K. Biotreatment of wastewater using aquatic invertebrates, *Daphnia magna* and *Paramecium caudatum*. *Bioresource Technology*. 2005. V. 96, № 1. pp. 55-58.
- Kvitek L., Vanickova M., Panacek A., Soukupova J., Dittrich M.,

- Valentova E., Pucek R., Bancirova M., Milde D., Zboril R. Initial Study on the Toxicity of Silver Nanoparticles (NPs) against *Paramecium caudatum*. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2009. V. 113, pp. 4296–4300.
38. Mayne R., Whiting J., Adamatzky A. Toxicity and Applications of Internalised Magnetite Nanoparticles Within Live *Paramecium caudatum* Cells. *BioNanoScience*. 2018. V. 8, № 1. pp. 90–94.
39. Thomason H., Montagnes D. J. Developing a quick and inexpensive in vitro (non-animal) bioassay for mascara irritation. *International journal of cosmetic science*. 2014. V. 36, № 2. pp. 134–139.
40. Shourav, M. K., Kim, J. K. Long-Term Tracking of Free-Swimming *Paramecium caudatum* in Viscous Media Using a Curved Sample Chamber. *Micromachines*. 2018. V. 9, № 1. 7 p. doi: 10.3390/mi9010007
41. Wang S., Guo J., Ono T., Kool E. T. DNA polyfluorophores for real-time multicolor tracking of dynamic biological systems. *Angewandte Chemie*. 2012. V. 51, № 29. pp. 7176–7180.
42. Ogawa N., Oku H., Hashimoto K. Ishikawa M. Motile cell galvanotaxis control using high-speed tracking system. *Proceedings of the 2004 IEEE International Conference on Robotics & Automation*. 2004. V. 2. pp. 1646–1651.
43. Жукова С. И., Ф Адельшин.К., Храпова Н.П., Пивень Н.Н., Прошина О.Б., Засядкина А.В., Плеханова Н.Г., Авророва И.В. Использование инфузорий *Paramecium caudatum* для оценки токсичности антигенов возбудителей особо опасных инфекций *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2005. Т. 5. С. 81–84.
44. Величко В. П., Семенова Е. Ф., Стойко Т. Г., Шпичка А. И., Монсеева И. Я. Токсичность розового и эрмотецевого масла в отношении культуры *Paramecium caudatum*. *Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Сер.: Биология, химия*. 2015. Т. 1(67), № 1. С. 10–15.
45. Карпухина О.В., Гумаргалиева К.З., Иноземцев А.Н. Исследование металл-индуцированного окислительного стресса у одноклеточных организмов. *Фундаментальные исследования - Биологические науки*. 2013. Т. 11, № 4. С. 671–674.
46. Логвинова Е. Е., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Сравнительный анализ мембранстабилизирующего действия препаратов плодов рябины черноплодной. *Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация*. 2015. Т. 4. С. 126–129.
47. Огай М. А., Степанова Э. Ф., Холодов Д. Б., Николаевский В. А. Антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект таурина. *Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация*. 2011. Т. 1. С. 186–191.
48. Wu D., Yan Y., Pei S., Zhang M. Inhibitory Effect of Three Heavy Metal Pollutants on Antioxidant Enzymes of *Paramecium caudatum*. *Advanced Materials Research*. 2014. V. 1065–1069. pp. 3071–3076.
49. Morgunov I. G., Karpukhina O. V., Kamzolova S. V., Samoilenko V. A., Inozemtsev A. N. Investigation of the effect of biologically active threo-Ds-isocitric acid on oxidative stress in *Paramecium caudatum*. *Preparative biochemistry biotechnology*. 2018. V. 48, № 1. pp. 1–5.
50. Степанова Э.Ф., Темирбулатова А.М., Воронова Л.С., Зилфикаров И.Н. Разработка сиропов композитного состава с фитоконпонентами адаптогенного действия. *Научные ведомости. Сер.: Медицина. Фармация*. 2011. Т. 22 (117), № 16/2. С. 131–137
51. Тринеева О. В., Сливкин А. И. Исследование мембран стабилизирующей, антиоксидантной и антиоксидантной активности водных извлечений из лекарственного растительного сырья (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) на тест-системе *Paramecium caudatum*. *Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация*. 2016. Т. 1. С. 165–169.
52. Трутаев И.В. Экспериментальное изучение влияния синтетических олигопептидов на модели свободноживущей инфузориитифельки *Paramecium caudatum*. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. Т. 5, № 16. С. 42–45.
53. Shahrokhi, S. S., Kesmati, M., Kazemi, B. Interaction of nicotine with morphine potency in *Paramecium caudatum*. *Heliyon*. 2019. V. 5, № 8. e02336. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02336
54. Ким В. Э., Степанова Э. Ф. Экспресс-анализ биологической активности комплексного фитоизвлечения и разработка микрокапсул на его основе. *Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация*. 2015. Т. 4. С. 122–125.
55. Пузырева И.Н., Огай М.А., Петров А.Ю. Экспресс-анализ биологической активности композиции из спиртоводного извлечения расторопши, астрагала и таурина. *Научные ведомости. Сер.: Медицина. Фармация*. 2016. Т. 12(233), № 34. С. 131–134
56. Умнова О.А. Сравнение биологической активности фитохимических композиций в нативной и липосомальных формах. *Вестник Московского Ун-та. Сер.: 2 Химия*. 2010. Т. 51. С. 476–484.
57. Ижагаев А.А., Бакулин К.С., Огай М.А., Ковтун Е.В., Ижагаева С.Г., Нам Н.Л., Беленова А.С. Разработка состава, технологии получения, биологические исследования лекарственного сиропа с этилметилгидроксипиридина сукцинатом для профилактики и лечения гипоксических состояний. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2019. Т. 5, № 2. С. 43–51.
58. Луценко С.В., Черемных Е.Г., Седакина Н.Е., Молдогазиева Н.Т., Громовых Т.И., Фельдман Н.Б. Исследование биологической активности липосомного сангвинарина на культурах опухолевых клеток и простейших. *Вестник ТГУ. Биология*. 2018. Т. 44. С. 99–117.
59. Пилипенко Д.М., Ракітянська М.А., Комаров А.І. Перспективи використання біотехнологічної тест-системи на основі культури *Paramecium caudatum* для скринінгу ліпосомальних форм антиоксидантів. *Біотехнологія: звернення та надії: збірник тез VIII Міжнародної науково-практичної онлайн конференції студентів, аспірантів та молодих вчених*. Київ : НУБіП України, 2019. С. 62.
60. Комаров А.І., Пилипенко Д.М. Дослідження мембраностабілізуючої та антиоксидантної активності ліпосомальних форм препаратів на тест-системі *paramecium caudatum*. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : збірник наукових праць*. Випуск 6. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 233.

References (transliterated)

- Goncharuk V.V., Kovalenko V.F. Teoreticheskie aspekty biotestirovaniya prirodnyh i pit'evykh vod. *Himija i tehnologija vody*. 2012. vol. 34, no. 2. pp. 171–178.
- Ryzhkina I.S., Kiseleva Y.V., Murtazina L.I., Kuznetsova T.V., Zainulgabidinov E.R., Knyazev I.V., Petrov A.M., Kondakov S.E., Kononov A.I. Diclofenac sodium aqueous systems at low concentrations: Interconnection between physicochemical properties and action on hydrobionts. *J. of Environmental Sciences*. 2020. vol. 88. pp. 177–186.
- DSTU 4173:2003. *Vyznachennia hostroi letalnoi toksychnosti na Daphnia magna Straus ta Ceriodaphnia affinis Lilljeborg (Cladocera, Crustacea)*. Kyiv: Derzhspozhyvstandart of Ukraine, 2004. 17 p.
- DSTU 4174:2003. *Vyznachennia khronichnoi toksychnosti khimichnykh rehovyn ta vody na Daphnia magna Straus i Ceriodaphnia affinis Lilljeborg (Cladocera, Crustacea)*. Kyiv: Derzhspozhyvstandart of Ukraine, 2004. 22 p.
- GOST 31674-2012 *Korma, kombikorma, kombikormovoe syr'e. Metody opredelenija obshhej toksychnosti*. M: Standartinform, 2014. 16 c.
- Cheremnyh E.G., Kuleshin A.V., Kuleshina O.N. Biotestirovanie pishhevnykh dobavok na infuzorijah. *Vestnik RUDN. Ser.: Jekologija i bezopasnost' zhiznedejatel'nosti*. 2011. vol. 3. pp. 5–12.
- Karami M., Shahrokhi S. S., Kazemi B., Moezzi, S. S. A new approach for aggregation of *Paramecium caudatum* by nitric oxide. *Iranian J. of microbiology*. 2013. vol. 5. no. 1. pp. 91–98.
- Kryuchkova M., Danilushkina A., Lvovab Y., Fakhruullin R. Evaluation of toxicity of nanoclays and grapheme oxide in vivo: a *Paramecium caudatum* study. *Environmental Science: Nano*. 2016. vol. 3. pp. 442–452.
- Karpukhina O.V., Inozemtsev A.N., Gumargalievaa K.Z. Citoprotekturnye svojstva dipeptidnyh mimitikov faktora rosta nervov i mozgovogo nejtrotroficheskogo faktora, GK-2 i GSB-106, v modeli oksilitel'nogo stressa u infuzorij. *Farmakokinetika i Farmakodinamika*. 2018. vol. 4. pp. 37–41.
- Volodina T. A. Obosnovanie optimal'nogo sostava kompozicij iz rastitel'nyh jekstraktov s ispol'zovaniem biologicheskogo testa na paramecijah. *Omskij nauchnyj vestnik*. 2012. vol. 2, no. 114. pp. 30–31
- Fedorovska M. I., Polovko N. P., Strilets O. P. Vychennia antyoksydantnykh vlastyvoستي dermatokosmetichnykh zasobiv z roslynnymy substansiiamy na biolohichnij modeli *Paramecium caudatum*. *Ukrainskyi biofarmatsevtichnyi zhurnal*. 2018. vol. 2, no. 55. pp. 22–25.
- Mayne R., Morgan J., Whiting J., Phillips N., Adamatzky A. On

- measuring nanoparticle toxicity and clearance with *Paramecium caudatum*. *Scientific reports*. 2019. no. 8957. 9 p. doi: 10.1038/s41598-019-45353-2
13. Uiterwaal S. F., Lagerstrom I. T., Luhning T. M., Salsbery M. E., DeLong, J. P. Trade-offs between morphology and thermal niches mediate adaptation in response to competing selective pressures. *Ecology and evolution*. 2020. vol. 10, no. 3. pp. 1368–1377.
 14. Haga N., Haneda K. *Paramecium* as a bioassay system for elucidation of cytotoxicity and biocompatibility of nanoparticles: effects of carbon nanofibers on proliferation and survival. *Japanese J. of Protozoology*. 2007. vol. 40, no. 2. pp. 113-121.
 15. Kawamoto K., Oashi T., Oami K., Liu W., Jin Y., Saito N., Sato I., Tsuda S. Perfluorooctanoic acid (PFOA) but not perfluorooctane sulfonate (PFOS) showed DNA damage in comet assay on *Paramecium caudatum*. *J. of toxicological sciences*. 2010. vol. 35, no. 6. pp. 835–841.
 16. Heydarnejad M. S. Survival of *Paramecium caudatum* at Various pH Values and Under Normoxic and Hypoxic Conditions. *Pakistan J. of Biological Sciences*. 2008. vol. 11. pp. 392-397.
 17. Karpuhina O. V., Gumargalieva K. Z., Inozemcev A. N. Osobennosti kinetiki rosta kul'tury *Paramecium caudatum* v modeli oksilitel'nogo stressa. *Vestnik Tehnologicheskogo Universiteta*. 2015. vol. 10. pp. 9-11.
 18. Chistjakova A. S., Slivkin A. I., Sorokina A. A., Ocenka membranstabilizirujushhego dejstvija preparatov travy gorca pochehujnogo. *Vestnik VGU. Ser.: Himija. Biologija. Farmacija*. 2014. vol. 4. pp. 140-143.
 19. Zhukova C. I., Adel'shin F. K., Hrapova N. P. *Sposob ocenki toksichnosti bakterial'nyh antigenov*. Patent RF, no. 2281507, 2006.
 20. Suezov R., Grishina P., Ponyaev A., Medvedskiy N., Eremin A. Relative cytotoxicity of complexes of platinum(II) and palladium(II) against pure cell culture *Paramecium caudatum* and human cell lines A431 and HaCaT. *Mediterranean J. of Chemistry*. 2018. vol. 7, no. 1. pp. 28-38.
 21. Amanchi N. R., Hussain M. M. Cytotoxic effects of delfin insecticide (*Bacillus thuringiensis*) on cell behaviour, phagocytosis, contractile vacuole activity and macronucleus in a protozoan ciliate *Paramecium caudatum*. *African J. of Biotechnology*. 2008. vol. 7, no. 15. pp. 2637-2643.
 22. Schlaepfer C. H., Wessel R. Excitable Membranes and Action Potentials in Paramecia: An Analysis of the Electrophysiology of Ciliates. *J. of undergraduate neuroscience education : JUNE : a publication of FUN, Faculty for Undergraduate Neuroscience*. 2015. vol. 14, no. 1, pp. A82–A86.
 23. Kutomi O., Takemura M., Kamachi H., Noguchi M. Estimation of Effective Concentrations of ATP-Regenerating Enzymes in Cilia of *Paramecium caudatum*. *J. of Eukaryotic Microbiology*. 2011. vol. 59, no. 1. pp. 49-53.
 24. Johri P., Marinov G. K., Doak T. G., Lynch M. Population Genetics of *Paramecium* Mitochondrial Genomes: Recombination, Mutation Spectrum, and Efficacy of Selection. *Genome biology and evolution*. 2019. vol. 11, no. 5. pp. 1398–1416.
 25. Gupta G. S., Kumar A., Senapati V. A., Pandey A. K., Shanker R., Dhawan A. Laboratory Scale Microbial Food Chain To Study Bioaccumulation, Biomagnification, and Ecotoxicity of Cadmium Telluride Quantum Dots. *Environmental science technology*. 2017. vol. 51, no. 3. pp. 1695–1706.
 26. Flores E., Thompson L., Sirisaengtaksin N., Nguyen A. T., Ballard A., Krachler, A. M. Using the Protozoan *Paramecium caudatum* as a Vehicle for Food-borne Infections in Zebrafish Larvae. *J. of Visualized Experiments*. 2019. vol. 143. e58949. doi:10.3791/58949
 27. Peterson T. S., Ferguson J. A., Watral V. G., Mutoji K. N., Ennis D. G., Kent M. L. *Paramecium caudatum* enhances transmission and infectivity of *Mycobacterium marinum* and *M. chelonae* in zebrafish *Danio rerio*. *Diseases of aquatic organisms*. 2013. vol. 106, no. 3. pp. 229–239.
 28. Krenek S., Petzoldt T., Berendonk T. U. Coping with temperature at the warm edge—patterns of thermal adaptation in the microbial eukaryote *Paramecium caudatum*. *PLoS one*. 2012. vol. 7, no. 3. e30598. doi: 10.1371/journal.pone.0030598
 29. Yang J., Wei H., Yalin T., Alan W., Xiaofeng L., Jiqiu, L. Combined effects of food resources and exposure to ammonium nitrogen on population growth performance in the bacterivorous ciliate *Paramecium caudatum*. *European J. of protistology*. 2019. vol. 71. 125631. doi: 10.1016/j.ejop.2019.125631
 30. Mansano A. S., Moreira R. A., Pierozzi M., Oliveira T., Vieira E. M., Rocha O., Regali-Selegim M. H. Effects of diuron and carbofuran pesticides in their pure and commercial forms on *Paramecium caudatum*: *The use of protozoan in ecotoxicology*. *Environmental pollution*. 2016. vol. 213, pp. 160–172.
 31. Yangora Y. M., Farooq S., Mustapha R. K., Savi M., Hamid H., Sonia H., Dutta J. Studies on the effect of chlorpyrifos (organophosphate) and cypermethrin (synthetic pyrethroid) on the growth of *Paramecium*. *Bayero J. of Pure and Applied Sciences*. 2017. vol. 10, no. 1. pp. 290 – 294.
 32. Dalinova A., Chisty L., Kochura D., Garnyuk V., Petrova M., Prokofieva D., Yurchenko A., Dubovik V., Ivanov A., Smirnov S., Zolotarev A., Berestetskiy A. Isolation and Bioactivity of Secondary Metabolites from Solid Culture of the Fungus, *Alternaria sonchi*. *Biomolecules*. 2020.,vol. 10, 18 p. doi: 10.3390/biom10010081
 33. Shadrin I.A. Toksikologicheskij analiz nekotoryh kormov po reakcii vyzhivaemosti infuzorij *Paramecium caudatum*. *Vestnik KrasGAU*. 2008. vol. 2. pp. 128-134 .
 34. Kozhaeva V. B., Samsonov V. P. *Sposob opredelenija toksichnosti vozduha po reakcii unfyzopuii Paramecium caudatum*. Patent RF, no. 2335770, 2008.
 35. Shadrin I.A. Ocenka toksichnosti pochv razlichnyh rajonov g. Krasnojarska po reakcii vyzhivaemosti infuzorii *Paramecium caudatum*. *Vestnik KrasGAU*. 2007. vol. 3. pp. 116-122.
 36. Shiny K.J., Remani K.N., Nirmala E., Jalaja T.K., Sasidharan V.K. Biotreatment of wastewater using aquatic invertebrates, *Daphnia magna* and *Paramecium caudatum*. *Bioresource Technology*. 2005. vol. 96, no. 1. pp. 55-58.
 37. Kvittek L., Vanickova M., Panacek A., Soukupova J., Dittrich M., Valentova E., Pucek R., Bancirova M., Milde D., Zboril R. Initial Study on the Toxicity of Silver Nanoparticles (NPs) against *Paramecium caudatum*. *The J. of Physical Chemistry C*. 2009. vol. 113, pp. 4296–4300.
 38. Mayne R., Whiting J., Adamatzky A. Toxicity and Applications of Internalised Magnetite Nanoparticles Within Live *Paramecium caudatum* Cells. *BioNanoScience*. 2018. vol. 8, no. 1. pp. 90–94.
 39. Thomason H., Montagnes D. J. Developing a quick and inexpensive in vitro (non-animal) bioassay for mascara irritation. *International J. of cosmetic science*. 2014. vol. 36, no. 2. pp. 134–139.
 40. Shourav, M. K., Kim, J. K. Long-Term Tracking of Free-Swimming *Paramecium caudatum* in Viscous Media Using a Curved Sample Chamber. *Micromachines*. 2018. vol. 9, no. 1. 7 p. doi: 10.3390/mi9010007
 41. Wang S., Guo J., Ono T., Kool E. T. DNA polyfluorophores for real-time multicolor tracking of dynamic biological systems. *Angewandte Chemie*. 2012. vol. 51, no. 29. pp. 7176–7180.
 42. Ogawa N., Oku H., Hashimoto K. Ishikawa M. Motile cell galvanotaxis control using high-speed tracking system. *Proceedings of the 2004 IEEE International Conference on Robotics & Automation*. 2004. vol. 2. pp. 1646-1651.
 43. Zhukova C. I., F Adel'shin.K., Hrapova N.P., Piven' N.N., Proshina O.B., Zaszjadkina A.V., Plehanova N.G., Avrorova I.V. Ispolzovanie infuzorij *Paramecium caudatum* dlja ocenki toksichnosti antigenov vzbuditelej osobo opasnyh infekcij. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii*. 2005. vol. 5. pp. 81-84.
 44. Velichko V. P., Semenova E. F., Stojko T. G., Shpichka A. I., Moiseeva I. Ja. Toksichnost' rozovogo i jeremotecevogogo masla v otoshenii kul'tury *Paramecium caudatum*. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Ser.: Biologija, himija*. 2015. vol. 1(67), no. 1. pp. 10–15.
 45. Karpuhina O.V., Gumargalieva K.Z., Inozemcev A.N. Issledovanie metall-inducirovannogo oksilitel'nogo stressa u odnokletochnyh organizmov. *Fundamental'nye issledovanija - Biologicheskie nauki*. 2013. vol. 11, no. 4. pp. 671-674.
 46. Logvinova E. E., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Sravnitel'nyj analiz membranstabilizirujushhego dejstvija preparatov plodov rjabiny chernoplodnoj. *Vestnik VGU. Ser.: Himija. Biologija. Farmacija*. 2015. vol. 4. pp. 126-129.
 47. Ogaj M. A., Stepanova Je. F., Holodov D. B., Nikolaevskij V. A. Antioksidantnyj i membranostabilizirujushhij jeffekt taurina. *Vestnik VGU. Ser.: Himija. Biologija. Farmacija*. 2011. vol. 1. pp. 186-191.
 48. Wu D., Yan Y., Pei S., Zhang M. Inhibitory Effect of Three Heavy Metal Pollutants on Antioxidant Enzymes of *Paramecium*

- caudatum*. *Advanced Materials Research*. 2014. vol. 1065-1069. pp. 3071-3076.
49. Morgunov I. G., Karpukhina O. V., Kamzolova S. V., Samoilenko V. A., Inozentsev A. N. Investigation of the effect of biologically active three-Ds-isocitric acid on oxidative stress in *Paramecium caudatum*. *Preparative biochemistry biotechnology*. 2018. vol. 48, no. 1. pp. 1–5.
 50. Stepanova Je.F., Temirbulatova A.M., Voronova L.S., Zilfikarov I.N. Razrabotka siropov kompozitnogo sostava s fitokomponentami adaptogennoho dejstvija. *Nauchnye vedomosti. Ser.: Medicina. Farmacija*. 2011. vol. 22 (117), no. 16/2. pp. 131-137
 51. Trineeva O. V., Slivkin A. I. Issledovanie membran stabilizirujushhej, antioksidantnoj i antitoksicheskoj aktivnosti vodnyh izvlechenij iz lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja (na primere plodov oblepichi krushinovidnoj i list'ev krapivy dvudomnoj) na test-sisteme *Paramecium caudatum*. *Vestnik VGU. Ser.: Himija. Biologija. Farmacija*. 2016. vol. 1. pp. 165-169.
 52. Trutaev I.B. Jeksperimental'noe izuchenie vlijanija sinteticheskikh oligopeptidov na modeli svobodnozhivushhej infuzorii-tufel'ki *Paramecium caudatum*. *Ukrainskyi biofarmatsevtichnyi zhurnal*. 2011. vol. 5, no. 16. pp. 42-45.
 53. Shahrokhi, S. S., Kesmati, M., Kazemi, B. Interaction of nicotine with morphine potency in *Paramecium caudatum*. *Heliyon*. 2019. vol. 5, no. 8. e02336. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02336
 54. Kim V. Je., Stepanova Je. F. Jekspress-analiz biologicheskoi aktivnosti kompleksnogo fitoizvlechenija i razrabotka mikrokapsul na ego osnove. *Vestnik VGU. Ser.: Himija. Biologija. Farmacija*. 2015. vol. 4. pp. 122-125.
 55. Puzyreva I.N., Ogaj M.A., Petrov A.Ju. Jekspress-analiz biologicheskoi aktivnosti kompozicii iz spirtovodnogo izvlechenija rastoropshi, astragala i taurina. *Nauchnye vedomosti. Ser.: Medicina. Farmacija*. 2016. vol. 12(233), no. 34. pp. 131-134
 56. Umnova O.A. Sravnenie biologicheskoi aktivnosti fitohimicheskikh kompozicij v nativnoj i liposomal'nyh formah. *Vestnik Moskovskogo U. Ser.: 2 Himija*. 2010. vol. 51. pp. 476-484.
 57. Izhagaev A.A., Bakulin K.S., Ogaj M.A., Kovtun E.V., Izhagaeva S.G., Nam N.L., Belenova A.S. Razrabotka sostava, tehnologii poluchenija, biologicheskie issledovanija lekarstvennogo siropa s jetilmetilgidroksipiridina sukcinatom dlja profilaktiki i lechenija gipoksicheskikh sostojanij. *Nauchnye rezul'taty biomedicinskih issledovanij*. 2019. vol. 5, no. 2. pp. 43-51.
 58. Lucenko S.V., Cheremnyh E.G., Sedjakina N.E., Moldogazieva N.T., Gromovyh T.I., Fel'dman N.B. Issledovanie biologicheskoi aktivnosti liposomnogo sangvinarina na kul'turah opuholevyh kletok i prostejsih. *Vestnik TGU. Biologija*. 2018. vol. 44. pp. 99-117.
 59. Pylypenko D.M., Rakitianska M.A., Komarov A.I. Perspektivy vykorystannia biotekhnolohichnoi test-systemy na osnovi kultury *Paramecium caudatum* dlja skryninhu liposomal'nykh form antyoksydantiv. *Biotekhnolohii: zvershennia ta nadii: zbirnyk tez VIII Mizhnarodnoi naukovykh-praktychnoi onlain konferentsii studentiv, aspirantiv ta molodykh vchenykh*. Kyiv : NUBiP of Ukraine, 2019. pp. 62.
 60. Komarov A.I., Pylypenko D.M. Doslidzhennia membranostabilizuiuchoi ta antyoksydantnoi aktyvnosti liposomal'nykh form preparativ na test-sistemi *Paramecium caudatum*. *Suchasni dosiahnennia farmatsevtichnoi tekhnolohii i biotekhnolohii : zbirnyk naukovykh prats. Issue 6*. Kharkiv: NUPH Publ., 2019. pp. 233.

Надійшла (received) 20.03.2020

Відомості про авторів / Сведения об авторах / About the Authors

Пилипенко Дар'я Михайлівна (Пилипенко Дарья Михайловна, Pylypenko Daria) – аспірант, асистент кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», м. Харків, Україна; ORCID: 0000-0002-4727-0476. e-mail: pdmforwork@gmail.com.

Ракітянська Марина Андріївна (Ракитянская Марина Андреевна, Rakitianska Maryna) – студент кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», м. Харків, Україна. e-mail: rakitamaryna@gmail.com.

Комаров Антон Ігоревич (Комаров Антон Игоревич, Komarov Anton) – студент кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», м. Харків, Україна. e-mail: angrygahade@gmail.com.