МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА

КОЖЕШКУРТ ВАЛЕНТИН ОЛЕКСАНДРОВИЧ

УДК: 577.359:537.311.31:57.013

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ЕЛЕКТРОПРОВІДНОСТІ БІОЛОГІЧНИХ СЕРЕДОВИЩ З ФУНКЦІОНАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ

03.00.02 – біофізика

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фізичної і біомедичної електроніки та комплексних інформаційних технологій Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна

Науковий керівник: доктор фізико-математичних наук, професор
заслужений діяч науки і техніки України
Катрич Віктор Олександрович
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України,
професор кафедри фізичної і біомедичної електроніки та комплексних інформаційних технологій.

Офіційні опоненти: доктор фізико-математичних наук, професор
Гордієнко Ольга Іванівна
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини
Національної академії наук України,
м. Харків,
завідувач відділу низькотемпературного консервування;

кандидат фізико-математичних наук
Хорунжа Ольга Володимирівна
Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова
Національної академії наук України,
м. Харків,
науковий співробітник відділу біологічної фізики.

Захист відбудеться «13» травня 2021 року о 15^{00} годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.13 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-4

З дисертацією можна ознайомитися у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий «13» квітня 2021 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Володимир БЕРЕСТ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Старіння організму, інфекційний процес, розвиток патологій проявляється в зміні функціональних станів клітин, тканин, біологічних рідин живих систем (Bozhkov A. I. Et al., 2019). З метою визначення тих чи інших функціональних станів біологічних систем ведеться активний пошук біологічних маркерів. Біомаркер – це показник, що вимірюється (біохімічний, генетичний, біофізичний), який вказує на велику ймовірність наявності захворювання і корелює з його клінічними або фізіологічними проявами (Мирошниченко И.И., 2009). Нарівні з цим біомаркери використовуються і при оцінці характеристик складу біологічних субстанцій в біотехнології, нанобіотехнології та інших областях наукових і прикладних досліджень (Paniagua-Michel J. et al., 2016). Проблема оцінки функціональних станів полягає в тому, що між геномними і біохімічними показниками дуже часто відсутній прямий взаємозв'язок, тобто вони досить лабільні. У зв'язку з цим необхідний пошук показників, які відображають найбільш загальні інтегральні характеристики складних багатокомпонентних сумішей. При виборі показників потенційних біомаркерів необхідно виходити з того, що для складних систем, в тому числі і біологічних, характерна ієрархічна організація (Ємельянов І. Г., 2019), у якій виділяють кілька рівнів: фізико-хімічний рівень (іонний склад, редокс-показники і склад мономерів); молекулярно-генетичний, надмолекулярний, клітинний, тканинний, організмовий рівні (Tavassoly I. et al., 2018). Виходячи з цього визначальним або базовим рівнем є іонний склад і редокс-система, оскільки він визначає функціональні характеристики всіх наступних рівнів організації (Bechtel T. J. et al., 2017). При оцінці функціональної активності біосистем на базовому рівні може бути використано такий біофізичний метод, як імпедансна спектроскопія біологічних тканин, рідин і сумішей. Цей метод є експресним, не вимагає великих витрат і може бути неінвазивним та високочутливими (Yao J. et al., 2020). Незважаючи на обґрунтованість і переваги перед біохімічними методами аналізу, він не знайшов широкого застосування (Barsoukov E., 2018). Це пов'язано з кількома причинами: з недостатньо розробленою приладовою базою, з відсутністю фундаментальних знань впливу макромолекул і перш за все білків в рідких середовищах на їх електропровідність і відсутністю досліджень взаємозв'язку електропровідності з функціональною активністю клітин, зокрема проліферативною активністю. У зв'язку з цим метою роботи стало вдосконалення технічних рішень для вимірювання електропровідності і дослідження електрофізичних характеристик біофізичних систем: біологічних рідин, клітинних культур і деяких тканин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційні наукові дослідження проводились протягом 2014 – 2020 років на кафедрі фізичної і біомедичної електроніки та комплексних інформаційних технологій факультету радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна згідно з планами НДР № ДР 0111U002460 «Розробка методу та експериментального зразка приладу для

неруйнівного визначення електродинамічних параметрів фізичних тіл» (здобувач – виконавець); НДР № ДР 0117U004963 «Розробка апаратно-програмного комплексу для широкосмугової імпедансометрії розчинів, суспензій, біологічних тканин і рідин» (здобувач – виконавець). За тематикою дисертації проведено наукові дослідження «Розробка ефективного методу отримання магнітних наночастинок на основі лазерної абляції» у ФРН на базі Ганноверського лазерного центру при університеті імені Готфріда Вільгельма Лейбніца.

Мета та завдання досліджень. Метою роботи є встановлення взаємозв'язку електропровідності, як біофізичної характеристики біологічних тканин і середовищ, з функціональним станом тканин (зокрема, активності проліферації, наявності фіброзу печінки) і якісним та кількісним складом їх макромолекул (білків, ліпідів).

У межах мети дослідження визначені наступні **завдання**:

1. Розробка і удосконалення технічних рішень для реалізації методу імпедансної спектроскопії.
2. Дослідження впливу кількісних параметрів (концентрації розчинів) і складу середовищ на електропровідність та діелектричну проникність:
   а) розчинів глюкози і хлориду натрію;
   б) біологічних тканин (з'єднувальної, м'язової і епітеліальної);
   в) суспензії наночастинок.
3. Дослідження взаємозв'язку функціональної активності (зокрема проліферативної активності) клітин кісткового мозку щурів з електропровідністю на прикладі:
   а) інтактних щурів і щурів з фіброзом печінки;
   б) інтактних щурів різного віку для дослідження впливу вікових характеристик об'єкта.
4. Визначення електропровідності та білкового складу різних фракцій молозива у різних особин тварин:
   а) цільного молозива;
   б) знежиреного молозива;
   в) молозива, що містить тільки низькомолекулярні білки.
5. Дослідження можливостіикористання електропровідності для оцінки якості молозива в процесі зберігання.
6. Побудова математичної моделі, що пояснює взаємозв'язок між електропровідністю та молекулярною масою білків молозива. Проведення оцінки біологічної активності низькомолекулярних компонентів молозива.

Об'єкт дослідження – електрофізичні параметри розчинів компонентів біологічних рідин (глюкози, натрій хлориду, білків молозива), біологічних рідин (молозива), біологічних тканин і культур клітин кісткового мозку як інтегральний показник їх стану.

Предмет дослідження – зв'язок електропровідності біологічних рідин з кількісними та якісними характеристиками їх складу та електропровідності культур

клітин кісткового мозку з їх проліферативною активністю залежно від віку та наявності фіброзу печінки тварин.

Методи дослідження. Імпедансна спектроскопія (вимірювання електрофізичних характеристик середовищ зразків), мас-спектрометрія (визначення білкового складу зразків), адсорбційна спектрофотометрія (визначення вмісту іонів міді), конфокальна мікроскопія (візуалізація клітин та визначення вмісту вільних форм кисню), оптична мікроскопія (визначення кількості та морфотипів клітин кісткового мозку), культивування клітин кісткового мозку в культурі *in vitro*, метод непараметричної статистики (Манна – Уїтні).

Наукова новизна одержаних результатів.

- Вперше запропоновано метод широкосмугової імпедансної спектроскопії для використання як експрес-методу при оцінці якості молозива, функціональної активності клітинних суспензій (різні ступені проліферативної активності) на прикладі клітин кісткового мозку та при оцінці фізико-хімічних характеристик суспензій наночастинок.
- Вперше показано, що електропровідність молозива залежить від співвідношення компонентів (іонного, ліпідного і білкового), а отже, від фізіолого-біохімічних особливостей продуцента молозива, зумовлених його унікальним метаболізмом.
- Вперше розроблено метод оцінки за даними широкосмугової імпедансної спектроскопії якості продукції, яку отримують з молозива, при різних термінах зберігання на різних етапах виробництва: вихідна сировина, видалення жиру, отримання фракції з певним складом білків.
- Вперше показано, що низькомолекулярні компоненти молозива, що мають високу електропровідність, здатні усувати токсичну дію сірчанокислої міді на організм, механізм якої пов’язано з регулюванням прооксидантно-антиоксидантної системи, тобто зміщенням рівноваги в бік антиоксидантів, і це відображається на електропровідності молозива.
- Показано, що збільшена кількість іонів кальцію, зменшена кількість продуктів вільнорадикальних реакцій в клітинах кісткового мозку старих тварин супроводжується збільшенням проліферативної активності клітин у первинній культурі, і для суспензії таких клітин характерна підвищена електропровідність у порівнянні з клітинами кісткового мозку, отриманими у молодих тварин.
- Удосконалено технологічний процес отримання наночастинок металів методом лазерної абляції. Показано можливість використання імпедансної спектроскопії в якості непрямого методу для вимірювання масової частки металу в суспензії в реального часу. Визначено емпіричну формулу для обчислення маси металу в суспензії за даними модуля імпедансу електрохімічної комірки.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблений пристрій для вимірювання електропровідності молозива використовується при виконанні госпдоговірної теми № 26-19 «Дослідження дозової залежності дії компонентів

молозива на тест-об'єкти та характеристику редокс-системи організму» в НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

Розроблена методика має практичне застосування як експрес-метод контролю концентрації та фізико-хімічних характеристик наночастинок в суспензії при їх отриманні методом лазерної абляції за значенням електропровідності, а також як експрес-метод оцінки проліферативної активності клітин кісткового мозку в культурі *in vitro*.

Результати роботи впроваджено в освітній процес в рамках дисципліни «Біотехнологічна фармакологія» для студентів кафедри молекулярної біології і біотехнології біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Результати дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес на факультеті радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна при розробці практичних робіт з дисципліни «Медико-біологічні дослідження» для студентів спеціальності 153 «Мікро- та наносистемна техніка» на першому (бакалаврському) рівні освіти.

Біоетична експертиза. Роботу з лабораторними тваринами (щурами) проводили відповідно до вимог положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та згідно відповідних законів України. Біоетичною комісією НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна порушень при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 1 від 28 «січня» 2021 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно проведено аналіз літературних даних за темою дисертації, виконано експериментальні дослідження, проведено математичні розрахунки, написано та оформлено розділи дисертації. Обговорення основних положень дисертаційної роботи виконано спільно з науковим керівником д. ф.-м. н., проф. Катричем В. О.

Апробація результатів дослідження. Основні результати дисертації були представлені на конференціях всеукраїнського та міжнародного рівнів: XXIV Міжнародній науково-практичній конференції «MicroCAD-2016» (Харків, 2016); 8th International Conference on Ultrawideband and Ultrashort Impulse Signals (UWBUSIS) (Odessa, 2016); IX международной научной конференции «Функциональная база наноэлектроники» (Одеса, 2017); 9th International Conference on Ultrawideband and Ultrashort Impulse Signals (UWBUSIS) (Odessa, 2018).

Публікації. За темою дисертаційної роботи було опубліковано 10 наукових праць, з яких 6 статей (3 – в наукових фахових виданнях України; 3 – в зарубіжних спеціалізованих виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази Scopus) та 4 тези доповідей в збірниках матеріалів вітчизняних та міжнародних конференцій.

Структура й обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел та 1 додатку. Обсяг загального тексту дисертації складає 145 сторінок, з них основного тексту 111 сторінок. Робота

містить 37 рисунків (із них 3 займають окрему сторінку) та 4 таблиці. Список звикористаних джерел містить 162 найменування.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано вибір теми дослідження. Сформульовано мету, завдання та методи дослідження. Визначено наукову новизну, практичне значення та достовірність результатів. Надано відомості про публікації, особистий внесок здобувача та апробацію результатів дисертації.

В **огляді літератури** розглянуто сучасний стан знань щодо взаємозв'язку електропровідності з рядом біофізичних, фізіологічних показників біологічних систем, а також кількісних та якісних параметрів складу біологічних рідин. Проаналізовано дані наукової літератури, що дозволяють встановити теоретичні засади використання імпедансної спектроскопії у біофізичних дослідженнях.

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження були виконані на наступних модельних середовищах: розчинах глюкози та натрій хлориду, суспензіях наночастинок металів, зразках біологічних тканин (м'язової, з'єднувальної тканини, шкіри), суспензіях клітин кісткового мозку, молозиві та його компонентах.

Експерименти проводили на статевозрілих 3-х місячних і 20-ти місячних самцях щурів лінії *Wistar*. Клітини кісткового мозку культивували в середовищі 199 з HEPES і антибіотиками (8% гентаміцину і 8% стрептоміцину) і 20% інактивованої фетальної телячої сироватки. Початкова концентрація клітин кісткового мозку при культивуванні завжди становила 2 млн. кл / мл.

Для визначення вільних форм кисню проводили візуалізацію клітин методом конфокальної мікроскопії, використовуючи лазерний скануючий конфокальний мікроскоп Olympus FV10i-LIV (Olympus, Японія), та проводили вимірювання відносної інтенсивності флюоресценції в кожній окремій клітині. Вміст іонів міді визначали на атомно – адсорбціонному спектрофотометрі С-115-М1 (Україна).

Молозиво отримували в Фермерському господарстві «Альфа» (Україна) у корів породи українська молочно-ряба, другого удою після отелення. Знежирення проводили центрифугуванням молозива при 3000 g протягом 20 хвилин при кімнатній температурі. Після видалення жирів зі знежиреного молозива видаляли всі білки з молекулярною масою понад 10 000 Да шляхом мембранної фільтрації.

Інтоксикація проводилася шляхом введення експериментальним тваринам сірчанокислої міді тричі з інтервалом 48 годин, що становило 5 діб від початку експерименту, в дозі 0,1 мг / 100 г маси тіла. Отримані зразки низькомолекулярних білків розчиняли у фізіологічному розчині і вводили їх експериментальним тваринам *per os* в дозі 0,1 мг / 100 г маси тіла. Отримували сироватку крові і в ній визначали вміст гідропероксидів ліпідів за методом (Asakawa T., Matsushita S., 1980) і активність глутатіонпероксидази за методом (Paglia D. E., Valentine W. N., 1967). Склад низькомолекулярних білків визначали на мас-спектрометрі Autoflex II LRF 20 «Bruker Daltonics» (Німеччина). Результати піддавали статистичній обробці методом тесту Манна – Уїтні. Відмінності між контрольними і експериментальними групами приймалися достовірними при $p < 0,05$ у порівнянні з контрольним варіантом.

Для отримання спектрів електропровідності методом імпедансної спектроскопії рідкі зразки вносили в тефлонову комірку, яка була підключена до двох портів векторного аналізатора «Rohde & Schwarz» ZNB 40 (Німеччина). Вимірювання питомої електропровідності проводили в діапазоні частот 100 кГц – 100 МГц.

Програмне забезпечення аналізатора «Rohde & Schwarz» ZNB 40 дозволяє отримувати автоматично розраховані за S-параметрами значення дійсної і уявної частини опору вимірювальної комірки Re (Z <– S_{21}) і Im (Z <– S_{21}). Модуль електропровідності G комірки (в загальному випадку комплексної) був обчислений за формулою:

$$|G| = \frac{1}{\sqrt{Re(Z<-S_{21})^2 + Im(Z<-S_{21})^2}} \quad (1)$$

Електропровідність вмісту вимірювальної комірки, крім властивостей речовини, визначається геометричними параметрами комірки. Щоб виключити вплив геометричних параметрів, результати були представлені у вигляді значень питомої електропровідності σ:

$$\sigma = k \cdot |G|, \quad (2)$$

де k = 175 м$^{-1}$ – коефіцієнт, обчислений для циліндричної комірки місткістю 1 мл, яка використовувалась в експерименті.

Модуль діелектричної проникності зразків було обчислено за формулою:

$$|\varepsilon| = \frac{k \cdot Im(Z<-S_{21})}{2\pi f \varepsilon_0 \cdot \left(Re(Z<-S_{21})^2 + Im(Z<-S_{21})^2\right)}, \quad (3)$$

де f – частота, ε_0 – діелектрична проникність вакууму.

Результати досліджень та їх обговорення

Електрофізичні характеристики жирової, м'язової та епітеліальної тканини. Розроблено вимірювальний сенсор на коаксіальному зонді, який являє собою відкритий кінець коаксіального хвилеводу, що дозволяє проводити вимірювання електрофізичних параметрів (зокрема, електропровідності і діелектричної проникності) як твердих, так і рідких середовищ. Векторний аналізатор електричних кіл дозволяє безпосередньо вимірювати дійсну і уявну частини коефіцієнта відображення сигналу від зонда, навантаженням якого було досліджуване середовище. За виміряним значенням дійсної та уявної частини коефіцієнта відбиття здійснювали розрахунок параметрів середовища за алгоритмом, розробленим на основі еквівалентної схеми вимірювального кола.

Отримано дисперсійні криві дійсної і уявної частин діелектричної проникності в діапазоні частот 0,1–10,5 ГГц для трьох рідких середовищ, що складаються з малої кількості компонентів (вода, розчини глюкози і натрій хлориду), а також для трьох зразків біологічних тканин (м'язової, жирової тканин і шкіри). На рис. 1 представлені частотні залежності модуля діелектричної проникності досліджуваних речовин.

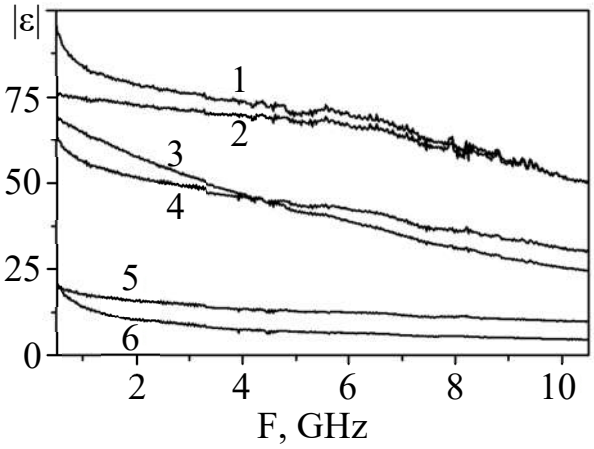

Рис. 1. Частотні залежності модуля діелектричної проникності: 1 – розчин натрій хлориду, 2 – вода, 3 – розчин глюкози, 4 – м'язова тканина, 5 – шкіра людини, 6 – з'єднувальна тканина.

Жирова тканина має виражені діелектричні властивості з діелектричною проникністю порядку десятків і малою питомою електропровідністю, що експериментально підтверджується результатами вимірювань (рис. 1). Епітеліальна тканина (шкіра) має діелектричну проникність, порівняну з такою жирової тканини. М'язова тканина за значенням діелектричної проникності займає проміжне положення між водою та епітеліальною і жировою тканинами, оскільки містить більше води (близько 72 – 80 %), діелектрична проникність якої на постійному струмі дорівнює 81.

Отримані результати показали, що електрофізичні параметри різних тканин відображають їх інтегральні характеристики і можуть бути використані для оцінки функціональних і структурних особливостей багатокомпонентних біологічних середовищ.

Залежність електропровідності суспензій наночастинок металів від їх концентрації і просторового розподілу в суспензії. Один із способів отримання суспензії наночастинок – лазерна абляція мішені, що знаходиться в рідині (деіонізованій воді). Є дві основні проблеми контролю даного процесу. По-перше, процедура ускладнюється необхідністю контролю маси утворених наночастинок, що найчастіше реалізується через безпосереднє зважування мішені. Це супроводжується багаторазовим вилученням мішені та кожного разу потребує повторної підготовки установки. По-друге, необхідно проводити контроль повторної фрагментації наночастинок, яка призводить до збільшення дисперсії розмірів наночастинок. Контроль за обома вказаними показниками може бути реалізовано за допомогою імпедансної спектроскопії суспензії наночастинок.

Значення електропровідності дозволяє зафіксувати наявність наночастинок на низьких частотах (оптимально до 100 кГц). Електропровідність залежить від просторової організації наночастинок, зокрема виявлено різницю між ручним перемішуванням і ультразвуковим перемішуванням (рис. 2).

Метод дозволяє визначати концентрацію наночастинок. Отримано достовірний збіг реальної (виміряної прямо) концентрації з концентрацією, розрахованою за виміряним значенням електропровідності за емпіричним рівнянням.

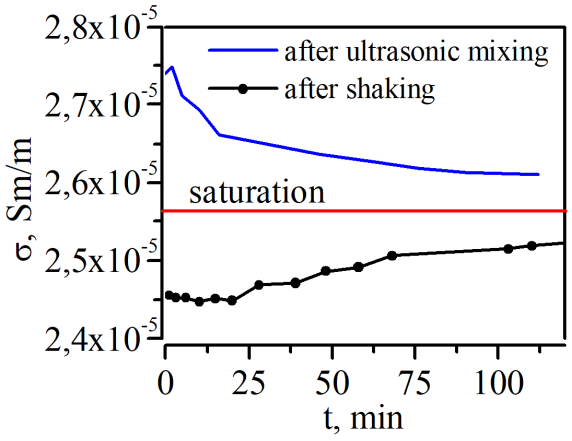

Рис. 2. Змінення електропровідності суспензії наночастинок заліза з часов при осадженні наночастинок після перемішування (after shaking) та після ультразвукової обробки (after ultrasonic mixing).

Зв'язок електропровідності суспензії клітин кісткового мозку щурів з різною функціональною активністю (різного віку і наявністю фіброзу печінки).

Питома електропровідність суспензії клітин кісткового мозку, отриманих у старих тварин, була достовірно вище такої молодих тварин (рис. 3). Враховуючи, що в суспензії клітин кісткового мозку молодих і старих тварин містилася однакова кількість клітин (3 млн / мл), то можна стверджувати, що кількість рухомих іонів в клітинах старих тварин може бути більшою у порівнянні з молодими тваринами. Разом з тим, не можна виключати, що в забезпеченні електропровідності клітинних суспензій беруть участь не тільки іони, а й інші заряджені компоненти клітин (амінокислоти, пептиди).

Є дані, що в біологічних середовищах можуть формуватися клітинні струмопровідні структури (Becker F. F. et al., 1995). Ці результати однозначно вказують на структурно-функціональні відмінності клітин кісткового мозку молодих і старих тварин, які відображають функціональну потребу організму.

Було показано, що клітини кісткового мозку, що утворюються у старих тварин, відрізняються від таких у молодих тварин за показниками редокс-системи та іонного складу, фізико-хімічними характеристиками і ймовірно за функціональними особливостями (Bozhkov A. I. et al., 2019).

Проліферативна активність клітин кісткового мозку в первинній культурі, отриманих у старих тварин, була на 47% вищою у порівнянні з такою молодих тварин через добу після переведення клітин в культуру (рис. 4).

На другу і третю добу інтенсивність росту культури сповільнювалася і виходила на стаціонарний рівень як для клітин кісткового мозку молодих, так і старих тварин (рис. 4).

Прояв проліферативної активності клітин кісткового мозку в культурі відображає перш за все проліферацію лімфоцитів. Кількість лімфоцитів у старих тварин було збільшено в 2,8 рази у порівнянні з молодими, що може бути пояснено і більшою проліферативною активністю суспензії клітин старих тварин.

Між проліферативною активністю клітин в культурі та електропровідністю суспензії клітин виявляється добре виражений взаємозв'язок.

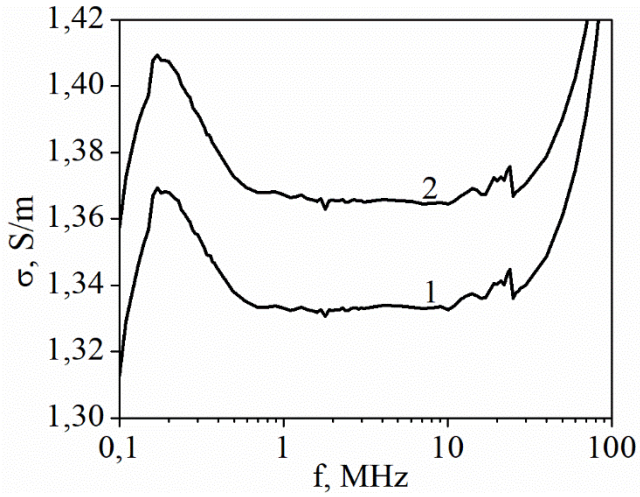

Рис. 3. Питома електропровідність суспензій клітин кісткового мозку, отриманих у інтактних молодих (1) і старих (2) тварин в діапазоні частот (f) від 100 кГц до 100 МГц.

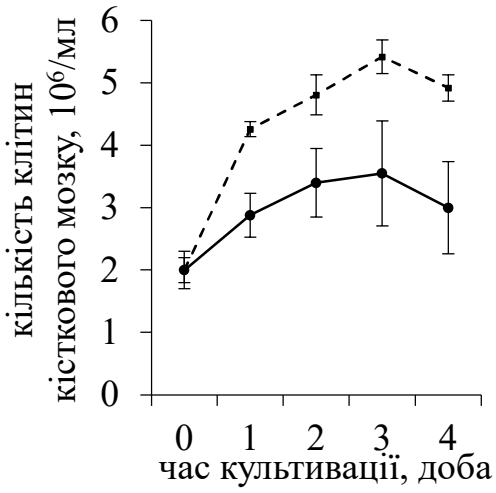

Рис. 4. Проліферативна активність клітин кісткового мозку в первинній культурі, які виділені у молодих (—■—)і старих (– -■- –) інтактних тварин.

Наявність фіброзу печінки викликала вік-залежну адаптивну відповідь на рівні клітин кісткового мозку. Так, вміст іонів міді в клітинах кісткового мозку молодих тварин на тлі Cu-індукованого фіброзу печінки збільшувався на 48 % від вихідного рівня (табл. 1). У той же час, вміст іонів міді в клітинах кісткового мозку старих тварин збільшувався в 3,3 рази від вихідного рівня (табл. 1).

На тлі збільшення вмісту іонів міді в клітинах кісткового мозку молодих тварин вміст кальцію зменшувався на 57% у порівнянні з вихідним рівнем, в той час, як в клітинах кісткового мозку старих тварин, їх вміст залишався низьким та не перевищував вмісту для інтактних молодих тварин (Табл. 1).

Таблиця 1. Вміст іонів міді, іонів кальцію, ROS в клітинах кісткового мозку молодих і старих інтактних тварин та молодих і старих тварин з Cu-індукованим фіброзом печінки. * відмічені варіанти, для яких $p \leq 0,05$ в порівнянні з молодими тваринами, по тесту Манна – Уїтні.

Досліджуваний параметр	Молоді тварини		Старі тварини	
	інтактні тварини	тварини з Cu-індукованим фіброзом печінки	інтактні тварини	тварини з Cu-індукованим фіброзом печінки
Cu^{2+} (мкг/10^6 клітин)	0,072 ± 0,005	0,107 ± 0,005	0,013* ± 0,002	0,044* ± 0,009
Ca^{2+} (ум. од.)	167± 4,9	96 ± 3,8	230* ± 8,1	297* ± 7,7
ROS (ум. од.)	374 ± 7,6	272 ± 3,6	148* ± 5,3	159* ± 6,2

Вміст ROS в клітинах кісткового мозку на тлі розвитку Cu-індукованого фіброзу печінки також мав виражену вік-залежну відповідь. Кількість ROS в клітинах кісткового мозку молодих тварин зменшувалася від її вихідного рівня на 28%, а в клітинах кісткового мозку старих тварин незначно збільшувалася, при цьому вміст ROS в клітинах кісткового мозку старих тварин з Cu-індукованим фіброзом печінки залишався менше у порівнянні з молодими тваринами на 42 % (Табл. 1).

Настільки виражені вік-залежні різноспрямовані зміни в іонному складі супроводжувалися зміною співвідношень диференційованих типів клітин в кістковому мозку. Так, в кістковому мозку старих тварин на тлі Cu-індукованого фіброзу печінки було збільшено вміст паличкоядерних нейтрофілів на 98%, метамієлоцитів на 103%, лімфоцитів у 1,5 рази, мієлоцитів у 3 рази і зменшений вміст сегментоядерних нейтрофілів у 1,6 рази порівняно з молодими тваринами (рис. 5).

У тому випадку, якщо у тварин був викликаний Cu-індукований фіброз печінки, то проліферативна активність клітин кісткового мозку в культурі була знижена в порівнянні з інтактними тваринами (рис. 6). Однак ефект інгібування проліферативної активності клітин кісткового мозку, отриманих у молодих і старих тварин, був різним. Так, кількість клітин кісткового мозку, отриманих у молодих тварин, збільшувалася після початку культивування (рис. 6). У той же час, кількість клітин кісткового мозку, отриманих у старих тварин, незначно збільшувалася, і до 7 діб культивування залишалася на цьому рівні (рис. 6).

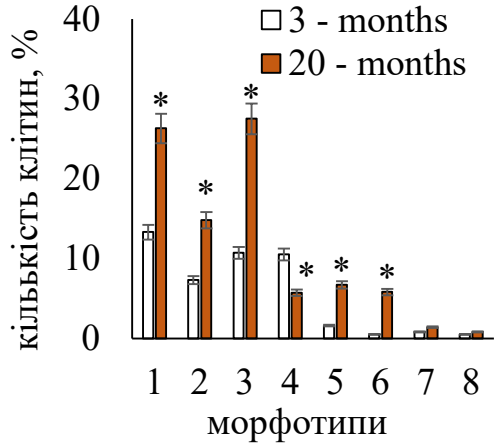

Рис. 5. Морфотипи клітин крові молодих тварин (3-months) і старих тварин (20-months) з Cu-індукованим фіброзом печінки:
1 – паличкоядерні нейтрофіли;
2 – метамієлоцити; 3 – лімфоцити;
4 – сегментоядерні нейтрофіли;
5 – мієлоціти; 6 – еозинофіли;
7 – базофіли; 8 – моноцити.
* відмічені варіанти, для яких $p \leq 0{,}05$ в порівнянні з молодими тваринами, по тесту Манна – Уїтні.

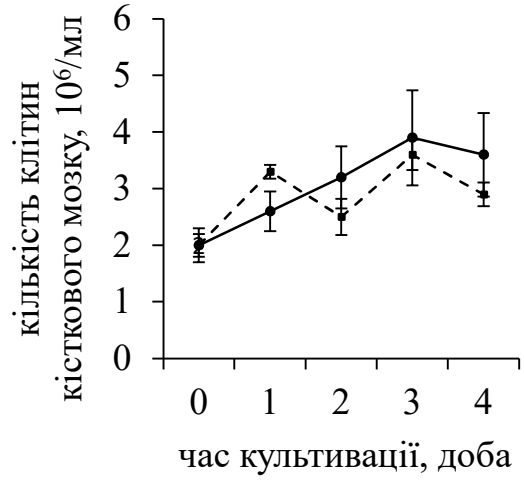

Рис. 6. Проліферативна активність клітин кісткового мозку в первинній культурі, які виділені у молодих (—●—) і старих (- -■- -) тварин з Cu-індукованим фіброзом печінки.

Отже, незважаючи на значне збільшення лімфоцитів в клітинах кісткового мозку на тлі фіброзу печінки, їх проліферативна активність була зменшена в порівнянні з інтактними тваринами.

Електропровідність суспензії клітин кісткового мозку молодих тварин на тлі фіброзу печінки супроводжувалася достовірним збільшенням у порівнянні з вихідним значенням, так само як і їх проліферативна активність (рис. 7 А). При цьому її значення практично збігалося з електропровідністю суспензії клітин кісткового мозку, отриманих у інтактних старих тварин (рис. 7 Б). У той же час, фіброз печінки у старих тварин не викликав достовірних змін електропровідності суспензії клітин кісткового мозку в порівнянні з їх вихідним рівнем, який був досить високий у інтактних тварин (рис. 7 Б), і проліферативна активність в первинній культурі залишалась незмінною.

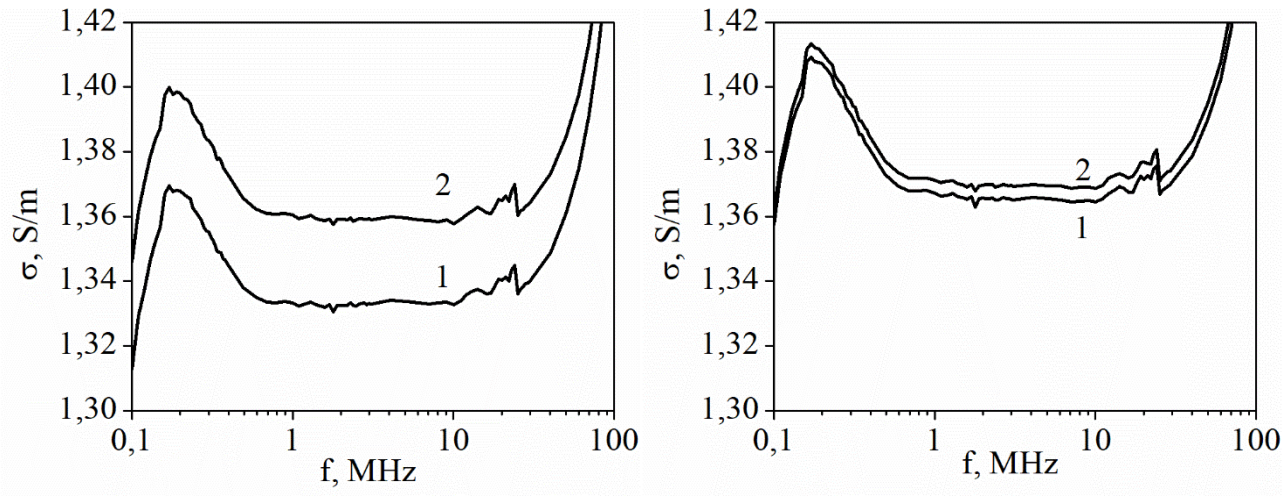

Рис. 7. Питома електропровідність σ в діапазоні частот f від 100 кГц до 100 МГц суспензії клітин кісткового мозку молодих інтактних тварин (1) і тварин з фіброзом печінки (1) (А), а також старих інтактних тварин (1) і тварин з фіброзом печінки (2) (Б).

Отримані результати вказують на те, що фіброз печінки індукує зміну в іонному складі, редокс-системі клітин і спрямованості диференціювання клітин кісткового мозку, і це здійснює вплив на електропровідність суспензії клітин. Для цих змін існує виражений вік-залежний характер. Однак, ці зміни мали різноспрямований характер, тобто патерни цих показників були різними як у тварин різного віку, так і на тлі Cu-індукованого фіброзу у молодих і старих тварин. Між проліферативною активністю клітин в культурі і електропровідністю існує взаємозв’язок.

Електропровідність цільного молозива і компонентів молозива, отриманих у різних корів. Було проведено дослідження електропровідності цільного молозива, знежиреного молозива та низькомолекулярних компонентів молозива (с молекулярною масою менше 10 000 Да), отриманого від трьох особин корів з іменами «Аврора», «Бариня», «Муха».

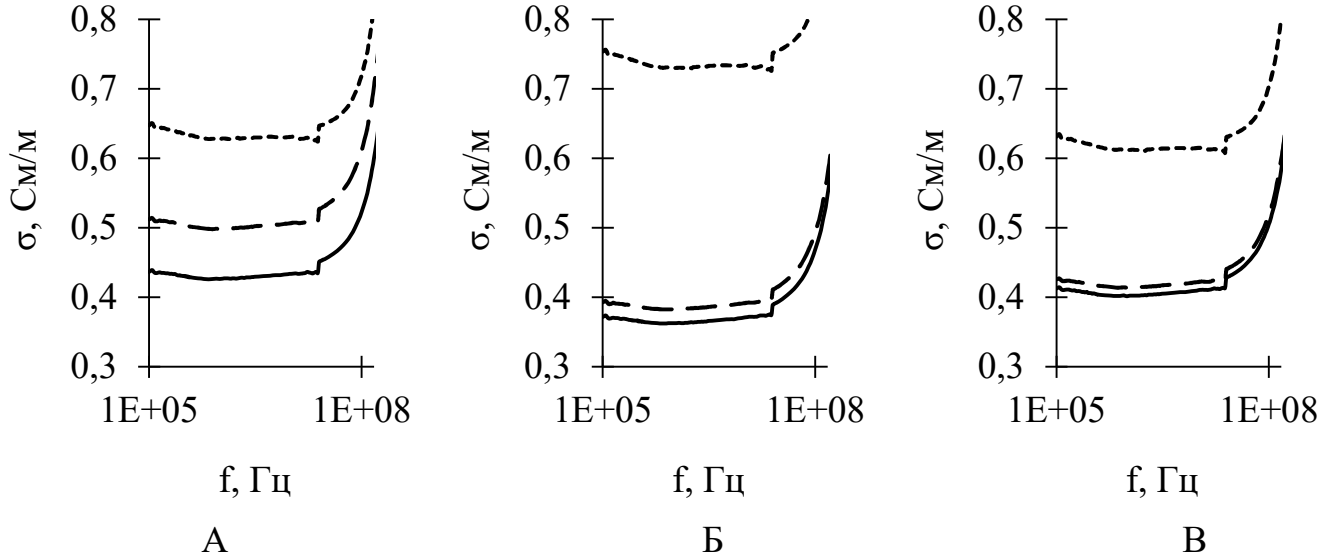

Рис. 8. Електропровідність σ цільного молозива (——), знежиреного молозива (— —) і низькомолекулярних компонентів молозива (- - - -) в діапазоні частот 100 кГц – 100 МГц, яке отримано від «Аврори» (А), від «Барині» (Б), від «Мухи» (В).

Порівняння графіків А, Б і В (Рис. 8) свідчить про те, що електропровідність цільного молозива, яку вимірювали при температурі 18 ± 1 °С, незначно варіювала у різних корів від 0,37 до 0,43 См / м і не залежала від частоти струму в діапазоні частот 100 кГц – 10 МГц (рис. 8).

В роботі (Gramse G. et al., 2013) біло показано, що ліпіди проявляють властивості діелектриків і можуть впливати на електропровідність в таких багатокомпонентних середовищах, як молозиво, тому нами було проведено дослідження електропровідності цільного та знежиреного молозива.

Було виявлено, що видалення ліпідів з цільного молозива супроводжувалося збільшенням електропровідності в порівнянні з цілісним молозивом, однак, якщо у «Аврори» це збільшення становило 17,0% від вихідного рівня, то у «Барині» і «Мухи» тільки на 5,6 і 2,9 % відповідно (рис. 8 А, Б, В). Ці результати дозволяють вважати, що кількість жирів у молозиві різних корів різна або вклад жирів в електропровідність молозива не суттєвий.

До складу молозива входить велика кількість білків з різною молекулярною масою, які можуть відрізнятися також за зарядом і впливати на електропровідність. Нами було проведено визначення складу білків методом мас-спектрометрії, яке показало, що до складу незбираного молозива входить кілька сотень білків з молекулярною масою від 4 до 20 кДа. У найбільших кількостях у складі молозива представлені білки з молекулярною масою від 4 до 9 кДа і фракція казеїну з молекулярною масою від 19 до 20,5 кДа. Поряд зі схожістю білкового складу молозива, отриманого у різних корів, виявлялися кількісні і якісні відмінності.

Видалення більшої частини високомолекулярних білків (більше 10 кДа) мембранної фільтрацією дозволило ідентифікувати 27 фракцій білків з молекулярною масою від 4835 до 9470 Да у «Аврори» і 30 фракцій білків в цьому ж діапазоні молекулярних мас у «Барині» (рис. 9).

Необхідно відзначити, що для білків молозива, отриманих у «Аврори» і «Барині», відсутній повний збіг спектральних характеристик за молекулярною масою, і тільки 5 фракцій білків були ідентичні (рис. 9). Отже, можна говорити про наявність виражених індивідуальних характеристик білкових спектрів молозива.

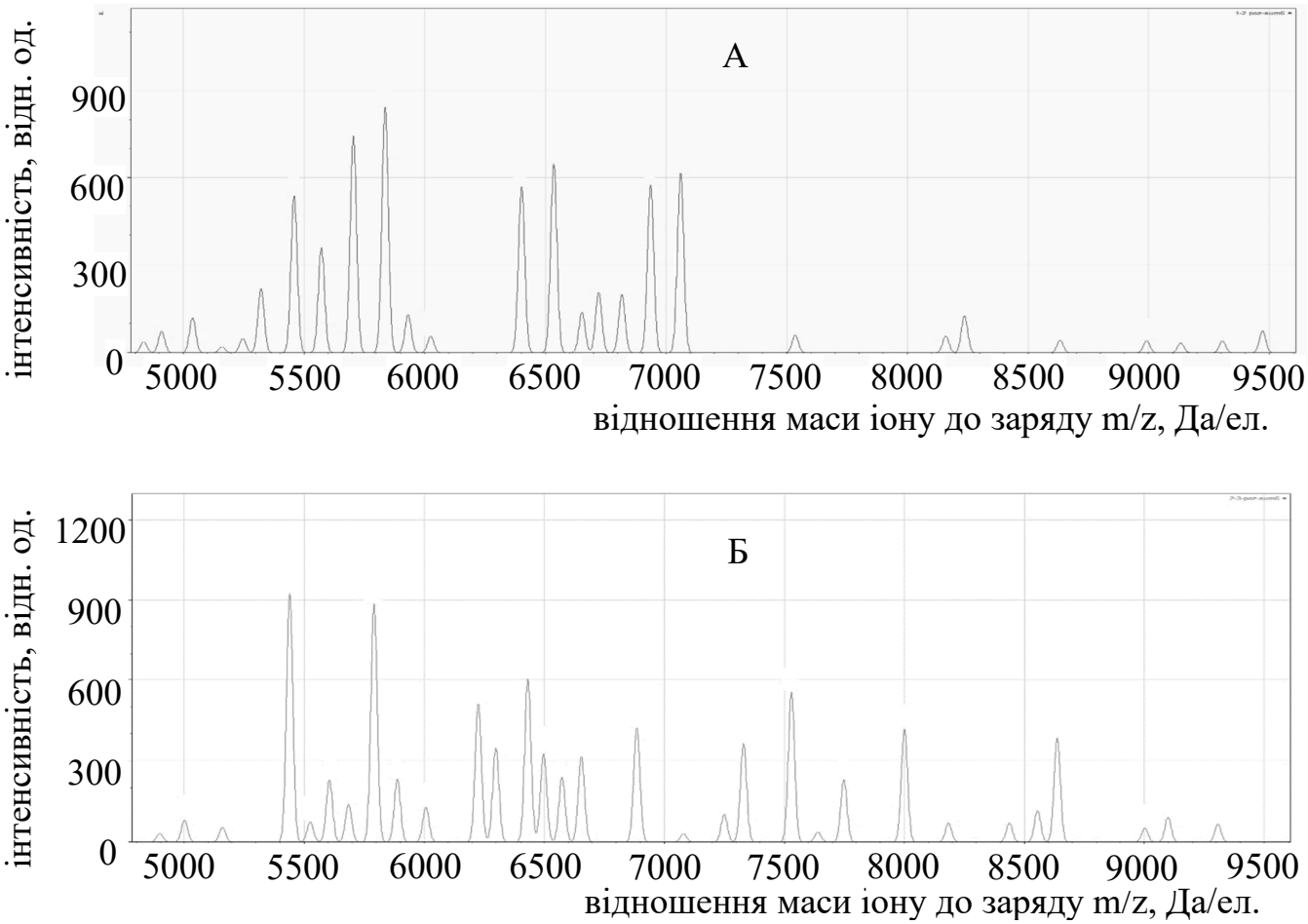

Рис. 9. Склад білків низькомолекулярних фракцій молозива за даними мас-спектрометрії: А – молозиво, отримане від корови «Аврора»; Б – молозиво, отримане від корови «Бариня». Представлені типові спектри білків.

Видалення високомолекулярних білків зі знежиреного молозива здійснювали мембранною фільтрацією, при цьому вміст білків зменшено в 3,3 рази від вихідного, майже в однаковій мірі у всіх зразках. Видалення високомолекулярних білків супроводжувалося значним збільшенням електропровідності в усіх трьох досліджуваних варіантах (рис. 8). Так, у «Аврори» електропровідність низькомолекулярних компонентів молозива була збільшена на 40,5% і 47,4% у порівнянні зі знежиреним і цільним молозивом відповідно (рис. 8 А). У «Барині» електропровідність збільшувалася на 96,1% і 101% у порівнянні зі знежиреним і цільним молозивом відповідно (рис.8 Б), а у «Мухи» – на 50,1% і 52,3% (рис.8 В).

Найбільше збільшення електропровідності після видалення високомолекулярних білків молозива спостерігалося для молозива «Барині», і у неї виявлявся найбільший спектр низькомолекулярних білків (рис. 9 Б).

Отже, високомолекулярні білки (молекулярна маса понад 10 кДа), які становили більшу частину білків молозива, зменшують рухливість іонів в електричному полі.

Математична модель кількості носіїв заряду в розчинах білків. Здатність водних розчинів проводити електричний струм залежить від кількості носіїв заряду, перш за все іонів, і їх рухливістю. У тому випадку, якщо носії зарядів представлені білками з великою молекулярною масою, то їх рухливість буде низькою через опір, обумовлений іншими молекулами, що містяться в молозиві. Отже, електропровідність таких багатокомпонентних сумішей з великою кількістю не тільки іонів, але і амінокислот і білків, буде залежати від молекулярної маси, розміру молекул, їх заряду і здатності до іонізації.

З метою перевірки цього положення була побудована модель взаємозв'язку молекулярної маси з потенційним зарядом молекули. Оскільки до складу білкової молекули входить різна кількість пептидів з позитивними, негативними зарядами або нейтральних, то білки можуть бути носіями зарядів, і це залежить від складу білка.

У даній роботі білки умовно розділені на низькомолекулярні фракції з молекулярною масою близько 6 кДа і фракції з молекулярною масою приблизно до 18 кДа. Приймемо середню молекулярну масу пептиду рівну 120 Да. Таким чином, молекули білків різних фракцій в досліджуваних розчинах містять відповідно близько 6000 / 120 = 50 пептидів і близько 18000 / 120 = 150 пептидів.

Були оцінені ймовірності події, при якій молекула білка нейтральна, і події, при якій молекула білка має не скомпенсований заряд. Було виявлено, що ймовірність наявності заряду молекули білка незначно відрізнялась у білків з різною молекулярною масою. Найбільше в рамках даної математичної моделі на електропровідність впливала кількість молекул, яка при однаковому масовому вмісту білка втричі більша у розчині низькомолекулярних білків, що пояснює більшу електропровідність.

Крім концентрації вільних носіїв заряду, на електропровідність впливає їх рухливість. У розглянутій моделі низькомолекулярні фракції завдяки меншому розміру молекули мають більшу рухливість в розчині, що на якісному рівні також підтверджує їх більшу електропровідність.

Вплив низькомолекулярних компонентів молозива на деякі показники редокс-систем організму після інтоксикації сірчанокислою міддю. Інтоксикація експериментальних тварин сірчанокислою міддю супроводжувалася втратою маси тіла тварин протягом перших 2-3 діб (рис. 10 А). Надалі маса тіла у цих тварин залишалася незмінною до 10-12 діб, після чого вони знову відновлювали зростання маси тіла і через 16 діб від початку експерименту не відрізнялися від контрольної групи (рис. 10 А).

Втрата маси і зупинка росту спостерігалася на тлі достовірного зниження температури тіла (рис. 10 Б). Так, якщо температура тіла у інтактної контрольної групи залишалася незмінною протягом експерименту і становила 37,5 ° С, то у тварин після інтоксикації була на 1 ° С нижче контролю (рис. 10 Б).

У тому випадку, якщо тварини отримували низькомолекулярні компоненти

молозива (НКМ) *per os* і їм вводили сірчанокислу мідь, то зростання їх маси тіла зупинялося в порівнянні з контролем. Уже після 6-ї доби від початку експерименту у них поновлювалося зростання, і до 20 діб і вони не відрізнялися і навіть незначно перевершували контрольну групу (рис. 10 А). При цьому температура тіла цих тварин, які отримали НКМ на тлі інтоксикації, не відрізнялася від такої контрольних тварин (рис. 10 Б).

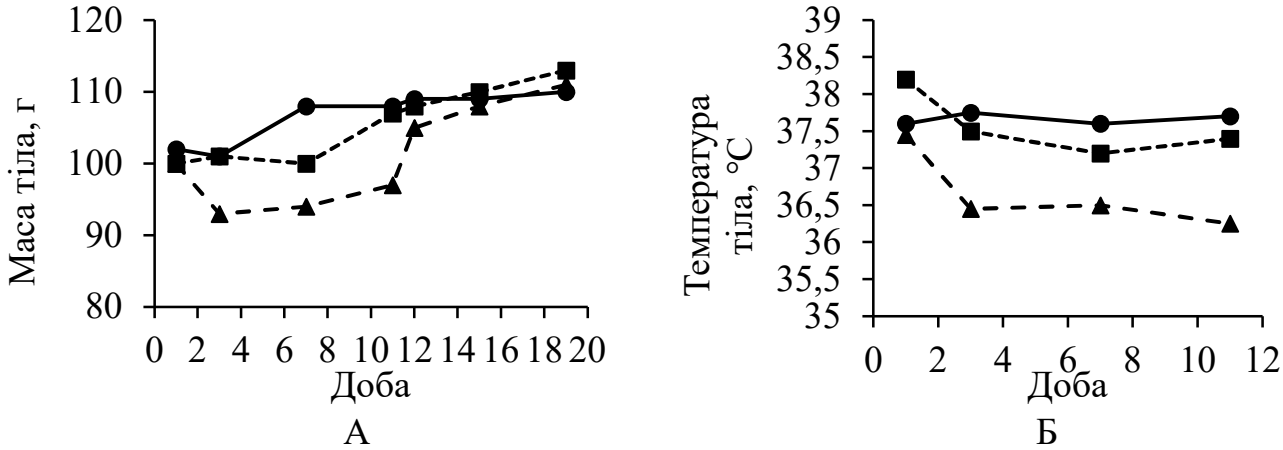

Рис. 10. Змінення фізіологічних показників в контрольній групі тварин (▲), у тварин після отримання сірчанокислої міді (■) і у тварин з токсикозом після отримання низькомолекулярних компонентів молозива в дозуванні 0,1 мг / 100 г маси тіла (●): А – маса тіла; Б – температура тіла. Представлені середні значення з п’яти тварин в кожній групі.

Відтак, НКМ здатні усувати негативну інгібуючу дію сірчанокислої міді на метаболізм і можуть розглядатися як потенційний антидот. Механізми цього ефекту можуть бути надзвичайно різноманітними.

У наступній серії експериментів було показано, що через 24 години після останнього введення тваринам сірчанокислої міді вміст гідропероксидів ліпідів в сироватці крові було збільшено в порівнянні з контролем на 75% (рис. 11 А). Таке збільшення вмісту продуктів вільнорадикальних реакцій відбувалося на тлі пригнічення (на 36%) одного із «центральних» антиоксидантних ферментів – глутатіонпероксидази (рис. 11 Б).

У тому випадку, якщо на тлі інтоксикації тварини отримували трикратно НКМ в дозі 0,1 мг / 100 г маси тіла, то вміст гідропероксидів ліпідів в сироватці крові не відрізнявся від контролю. Активність глутатіонпероксидази в цьому випадку навіть перевершувала таку інтактних контрольних тварин на 30% (рис. 11 Б).

Отже, механізми усунення токсичної дії іонів міді низькомолекулярними компонентами молозива реалізується через регуляцію редокс-системи організму. На основі НКМ можуть бути розроблені медичні препарати, здатні усувати токсичну дію іонів важких металів і, можливо, інших токсикантів. В якості методів стандартизації зазначених медичних препаратів на основі субстанцій молозива на різних стадіях виробництва запропоновано використовувати імпедансну спектроскопію.

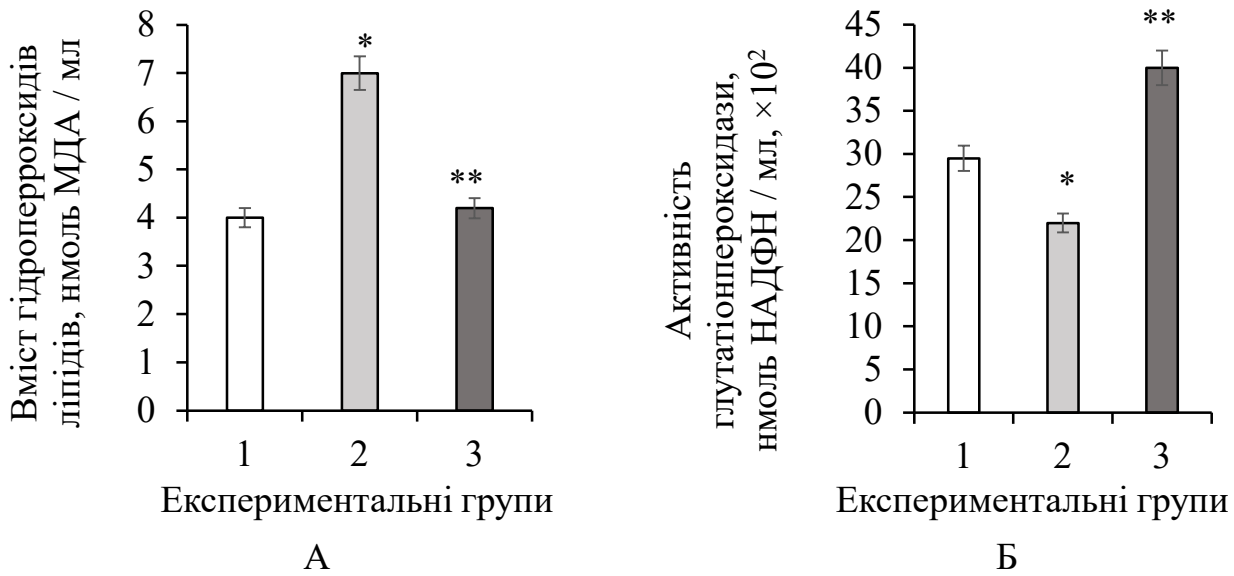

Рис. 11. Змінення показників редокс-системи контрольних тварин (1), тварин з токсикозом (2) і тварин з токсикозом, яким вводили низькомолекулярні компоненти молозива в дозуванні 0,1 мг / 100 г маси тіла (3): А – вміст гідроперекисів ліпідів в сироватці крові; Б – активність глутатіонпероксидази в сироватці крові.
В кожній групі представлені середні значення з п’яти тварин.
* відмічені варіанти, для яких $p \leq 0,05$ в порівнянні з контрольною групою, по тесту Манна – Уїтні.
** відмічені варіанти, для яких $p \leq 0,05$ в порівнянні з тваринами з токсикозом, яким не вводили низькомолекулярні компоненти молозива, по тесту Манна – Уїтні.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено електромагнітні сенсори, які дозволяють, використовуючи метод широкосмугової імпедансної спектроскопії, проводити експрес-оцінку фізико-хімічних характеристик наночастинок, біологічних середовищ (молозива, середовищ для культивування клітин кісткового мозку, сироватки крові) та тканин.

2. Виявлено взаємозв’язок між проліферативною активністю клітин кісткового мозку в первинній структурі та електропровідністю клітинних суспензій. Запропоновано експрес-метод визначення проліферативної активності клітинних культур за зміненням їх електропровідності.

3. Встановлено, що електропровідність молозива та інших багатокомпонентних біологічних середовищ залежить не тільки від іонного складу, але і від співвідношення компонентів, що входять до їх складу, насамперед ліпідів та високомолекулярних білків (з молекулярною масою більше 10 кДа), тобто електропровідність є інтегральним показником структури та складу біологічних систем.

4. Експериментально показано та математично обґрунтовано, що видалення високомолекулярних білків (з молекулярною масою більше 10 кДа) сприяє значному збільшенню електропровідності, що свідчить про те, що залишкові низькомолекулярні білки (з молекулярною масою менше 10 кДа) забезпечують

високий рівень електропровідності. Запропоновано метод оцінки терміну зберігання біологічних рідин (на прикладі молозива) за зміненням електропровідності.

5. Розроблено експрес-метод оцінки якості продуктів, отриманих із молозива (знежирене молозиво, низькомолекулярні компоненти молозива) на основі змінення їх електропровідності.

6. Показано, що низькомолекулярні компоненти молозива (молекулярна маса менше 10 кДа), які мають відносно високу електропровідність порівняно з високомолекулярними компонентами, проявляють антиоксидантні властивості та усувають токсичну дію сірчанокислої міді.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації. Наукові праці в зарубіжних спеціалізованих виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази Scopus

1. Katrich V., Mustetsov N., **Kozheshkurt V.** Improvement of the model of temperature distribution and registration of native radiation of biological objects // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. 2017. Vol. 4, N 5. P. 10-16. *(Особистий внесок здобувача: розробка математичної моделі розподілу температури, розробка математичної моделі реєстрації власного електромагнітного випромінювання біологічних тканин, графічне представлення результатів, участь у обговоренні, переклад на англійську мову)*

2. Kurselis K., **Kozheshkurt V.**, Kiyan R., Chichkov B., Sajti L. Thermally assisted nanosecond laser generation of ferric nanoparticles //Applied Physics Letters. 2018. Vol. 112, N 11. P. 113103. *(Особистий внесок здобувача: розробка експериментальної установки для нагрівання мішені, виконання експериментальної роботи, математична обробка отриманих даних, участь у обговоренні)*

Наукові праці в наукових фахових виданнях України

3. Антоненко Е. А., **Кожешкурт В. А.**, Карпов А. И., Мустецов Н. П. Исследование возможностей метода коаксиального зонда для измерения дисперсии диэлектрической проницаемости биопроб // Прикладная радиоэлектроника: науч.-техн. журн. 2016. Т. 15, № 1. С. 51–56. *(Особистий внесок здобувача:виконано математичну обробку отриманих експериментальних даних з параметрів біологічних тканин та фізіологічних рідин, участь у обговоренні)*

4. Антоненко Є. О., **Кожешкурт В. О.**, Штода Д. О., Катрич В. О. Амплітудно-фазовий детектор для систем діелектричної спектроскопії // Радіофізика та електроніка. 2020. Т. 25, № 3. С. 68–77. *(Особистий внесок здобувача: виконання експериментальної роботи з вимірювання параметрів детектора, участь у обговоренні результатів)*

5. Антоненко Є. О., **Кожешкурт В. О.**, Штода Д. О., Катрич В. О., Божков А. І. Електромагнітний сенсор для вимірювання діелектричної проникності

матеріалів // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія «Радіофізика та електроніка», 2020. випуск 32. С. 51-58. *(Особистий внесок здобувача: виконання експериментальної роботи з дослідження за допомогою розробленого резонатора твердих діелектриків та біологічних рідин, участь у обговоренні результатів)*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

6. **Kozheshkurt V.**, Ivanov I., Antonenko Y., Katrich V., Bozhkov A., Gromovoy T. Devising an express method for estimating the quality of colostrum and its components based on electrical conductivity // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. 2021. Vol. 1, N 11 (109). P. 69-77. *(Особистий внесок здобувача: виконання експериментальної роботи, виконано математичну обробку отриманих даних, участь у обговоренні)*

Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації

7. **Кожешкурт В. А.**, Антоненко Е. А. Исследование дисперсионной зависимости диэлектрической проницаемости биологических сред // Міжнародна наукова конференція MicroCAD: Секція №15 - Застосування комп'ютерних технологій для вирішення наукових і соціальних проблем у медицині, 18-20 травня 2016.: Харків, НТУ «ХПІ», 2016. С. 36. *(Особистий внесок здобувача: виконання експериментальної роботи, участь у математичній обробці отриманих даних, участь у обговоренні результатів, участь у написанні тез, доповідь на конференції)*

8. **Kozheshkurt V. A.**, Katrich V. A. Determining the Depth of the Temperature Anomalies in Biological Tissue // 8th International Conference on Ultrawideband and Ultrashort Impulse Signals (UWBUSIS), 5-11 September 2016.: Odessa, 2016. P. 171-174. (Scopus). *(Особистий внесок здобувача: виконання експериментальної роботи, побудовано математичну модель розподілу температури при температурної аномалії, виконано графічну обробку отриманих результатів розрахунків, участь у обговоренні результатів, написання тез, доповідь на конференції)*

9. Katrych V. O., Mustetsov M. P., **Kozheshkurt V. O.**, Slipchenko O. V. Prospects for the use of nanoparticles in medicine // Функциональная база наноэлектроники : IX международная научная конференция. Сборник научных трудов, 18-23 вересня 2017.: Одеса, 2017. С. 62-66. *(Особистий внесок здобувача: виконання огляду літературних джерел за темою оглядової доповіді, участь у обговоренні результатів, написання тез, доповідь на конференції)*

10. **Kozheshkurt V.**, Antonenko Ye., Shtoda D., Slipchenko O., Katrych V. Possibilities of Impedance Spectroscopy for the Study of Bioliquids // 9th International Conference on Ultrawideband and Ultrashort Impulse Signals (UWBUSIS), 4-7 September 2018.: Odesa. 2018. P. 260-263. (Scopus). *(Особистий внесок здобувача: виконання експериментальної роботи, участь у обговоренні результатів, участь у написанні тез, доповідь на конференції)*

АНОТАЦІЯ

Кожешкурт В. О. Взаємозв'язок електропровідності біологічних середовищ з функціональною активністю. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2021.

Дисертацію присвячено дослідженню взаємозв'язку функціональної активності біологічних систем з електропровідністю. Досліджували електропровідність простих водних систем (суспензії наночастинок), біологічних рідин (компонентів молозива), культур клітин кісткового мозку. Для визначення електропровідності об'єктів дослідження використовували метод імпедансної спектроскопії.

Виявлено залежність електропровідності суспензії наночастинок від їх кількості в середовищі та від розподілу в суспензії та форми. Показано, що між іонним складом, вмістом реактивних форм кисню, проліферативною активністю клітин кісткового мозку в суспензії і електропровідністю існує взаємозв'язок. Вплив високомолекулярних білків на електропровідність розчину показано на моделі молозива. Отримані результати дозволяють рекомендувати метод імпедансної спектроскопії для інтегральної оцінки якості молозива і його продуктів, в біотехнології для оцінки характеристик клітинних культур та для контроля характеристик наночастинок.

Ключові слова: білковий склад розчинів, електропровідність біофізичних систем, імпедансна спектроскопія, іони, клітини кісткового мозку.

ABSTRACT

Kozheshkurt V. O. The relationship between the electrical conductivity of biological media with the functional activity. – Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for the scientific degree of candidate of sciences in physics and mathematics, specialty 03.00.02 – Biophysics. – V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The dissertation is devoted to the study of the interrelations of functional activity, in terms of such indicators as the proliferative activity of bone marrow cells in primary culture, the presence of pathologies, in particular liver fibrosis, the composition of biological fluids using the example of colostrum, with electrical conductivity. The electrical conductivity of relatively simple aqueous systems (suspension of nanoparticles), biological fluids (colostrum from different cows), cultures of bone marrow cells and various tissues (connective, muscle, epithelial) were studied. Biophysical, biochemical and cytological research methods were used to determine the parameters of the objects of study.

For the first time, the method of broadband impedance spectroscopy was proposed for use as an express method for assessing the quality of colostrum, functional activity of cell

suspensions (different degree of proliferative activity) on the example of bone marrow cells, and in assessing physicochemical characteristics of nanoparticle suspensions.

It was first shown that the electrical conductivity of colostrum depends on the ratio of its constituent components (ionic, lipid and protein composition), as well as on the physiological and biochemical characteristics of the colostrum producer. This individual feature of the composition of colostrum reflects the uniqueness of the individual's metabolism. It has been experimentally shown and mathematically substantiated that the removal of high molecular weight proteins (molecular weight more than 10 kDa) contributes to a significant increase in electrical conductivity, which indicates that remaining low molecular weight proteins (molecular weight less than 10 kDa) provide a high level of electrical conductivity. A method for assessing the quality of products obtained from colostrum with different durations of storage at different stages of production: raw material, fat removal, obtaining a fraction with a certain protein composition – according to broadband impedance spectroscopy was developed. It is shown that low molecular weight components of colostrum with high electrical conductivity are able to eliminate the toxic effect of copper sulfate on the body, the mechanisms of which are related to the regulation of the prooxidant-antioxidant system, i.e. the shift of balance towards antioxidants.

It is shown that there is a complex interrelation between the ionic composition (content of calcium and copper ions), the content of reactive oxygen species, the proliferative activity of bone marrow cells in suspension and the electrical conductivity of the cells culture. Liver fibrosis induces a change in the ionic composition, redox system of cells and the direction of differentiation of bone marrow cells. This affects the electrical conductivity of the cell culture. For these changes there is a pronounced age-dependent nature, and they are multidirectional, i.e. the patterns of these indicators were different in animals of different ages, and against the background of Cu-induced fibrosis in young and old animals.

It is shown that the increased number of calcium ions, reduced number of products of free radical reactions in bone marrow cells of old animals is accompanied by increased proliferative activity of cells in primary culture, the suspension of such cells is characterized by increased conductivity compared to bone marrow cells obtained in young animals. There is an interrelation between cell proliferative activity in culture and electrical conductivity.

It is shown that the electrical conductivity of a suspension of nanoparticles depends not only on their amount in the medium, but also on the distribution in the suspension and the shape, which makes it possible to recommend this method for monitoring the characteristics of nanoparticles. In particular, the possibility of using impedance spectroscopy as an indirect method for measuring the mass content of metal in the suspension in real time is shown.

The results obtained allow us to recommend a method of impedance spectroscopy for an integral assessment of the quality of colostrum and substances obtained from colostrum (skim colostrum, low molecular weight components of colostrum), as well as changes in the quality of colostrum during storage. This method can be used in biotechnology to assess the characteristics of cell cultures.

Keywords: protein composition of solutions, electrical conductivity of biophysical systems, impedance specrtoscopy, ions, bone marrow cells.