

УДК 616.284-31-022.532-06:616.36-099:546.81]-092.9
DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i2.6665

І. А. Бандас, М. І. Куліцька, М. М. Корда

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ДІОКСИДУ КРЕМНІЮ НА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ СВИНЦЮ

Відома для наночастинок здатність посилювати транспорт хімічних речовин і лікарських засобів у клітини і через бар'єри організму робить актуальним питання про можливість потенціювання токсичної дії хімічних контамінантів при їх сумісному надходженні в організм. Метою даної роботи було дослідити здатність наночастинок діоксиду кремнію впливати на гепатотоксичність свинцю в експерименті. У сироватці крові щурів визначали активність аланін- і аспаратамінотрансфераз, лужної фосфатази, вміст загального білка, загального білірубину, сечовини і креатиніну. Встановлено, що під впливом наночастинок SiO_2 досліджувані показники не зазнавали достовірних змін. Введення щурам ацетату свинцю призводило до вираженого цитолізу гепатоцитів, про що свідчило достовірне підвищення активності аланін- і аспаратамінотрансфераз, лужної фосфатази, а також достовірне зниження вмісту загального білка в сироватці крові та зростання вмісту загального білірубину. Найбільш суттєво досліджувані показники змінювалися в сироватці крові тварин, яким вводили наночастинок разом з ацетатом свинцю. У цьому випадку активність маркерних ензимів цитолізу і лужної фосфатази була достовірно вищою порівняно з групою тварин, яким вводили тільки хімічний токсикант. Зроблено висновок, що наночастинок діоксиду кремнію, які можуть бути присутні у доквіллі й харчовій продукції як контамінанти, здатні посилювати гепатотоксичний ефект свинцю.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: наночастинок, діоксид кремнію, свинець, щури, гепатотоксичність.

ВСТУП. Наночастинок широко використовують у наукових дослідженнях, промисловості та медицині [2–4, 10, 12]. Завдяки своїм унікальним фізичним та хімічним властивостям, наночастинок можуть мати потенційно глибокі ефекти на клітини і тканини. Зважаючи на широке за масштабами і значне за обсягом використання наночастинок багатьма країнами світу в різних сферах виробництва і побуту, вони набувають характеру нового глобального антропогенного чинника, який може характеризуватись потенційною небезпекою для здоров'я населення [1, 8, 15, 16].

Одним із пріоритетних видів наноматеріалів є наноструктурний високодисперсний аморфний діоксид кремнію (SiO_2), експозиція людини до якого постійно збільшується, оскільки наночастинок SiO_2 використовують у всезростаючих масштабах, як у промисловості (для виготовлення напівпровідників, спеціальних матеріалів з унікальними фізичними властивостями), так і в

© І. А. Бандас, М. І. Куліцька, М. М. Корда, 2016.

медицині (переносник ліків), фармакології (сорбент) та косметології [9, 12, 13, 15]. За певних умов наночастинок діоксиду кремнію можуть проявляти несприятливий, у тому числі токсичний, вплив на організм [17]. Навіть у невисоких дозах вони здатні збільшувати продукцію медіаторів запалення, проникати в ядро клітини і вбудовуватись у фосфатний каркас ДНК, підвищувати рівень активних форм кисню, впливати на процеси апоптозу. Змінюючи цілісність ядра, наночастинок діоксиду кремнію можуть формувати внутрішньоядерні білкові скупчення, що, у свою чергу, викликає пригнічення реакцій реплікації, транскрипції і проліферації [11, 18].

Крім прямого впливу наночастинок SiO_2 на клітини, існує можливість їх взаємодії з традиційними контамінантами довкілля, такими як, наприклад, іони важких металів (зокрема, свинець) [7]. На сьогодні питання про біологічні ефекти наночастинок при їх надходженні в організм разом із традиційними токсикантами залишаються недослідженими.

Метою дослідження було вивчити здатність наночастинок SiO_2 впливати на гепатотоксичність свинцю в експерименті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведені на 40 безпородних білих щурах-самцях масою 150–160 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні щури (контроль); 2-га – щури, яким щоденно внутрішньошлунково вводили суспензію наночастинок SiO_2 в дозі 50 мг/кг маси тіла тварини протягом 3-х тижнів; 3-тя – тварини, яким щоденно внутрішньошлунково вводили ацетат свинцю у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг маси тіла (в перерахунок на свинець) протягом 3-х тижнів; 4-та – щури, яким щоденно вводили суспензію наночастинок SiO_2 з ацетатом свинцю протягом 3-х тижнів у вищезазначених дозах [6]. Інтактним тваринам щоденно внутрішньошлунково вводили відповідну кількість фізіологічного розчину.

В експерименті використовували аморфний нанопорошок діоксиду кремнію (SiO_2 , 99+%, 20–30 nm) виробництва “US Research Nanomaterials, Inc.” (США). Диспергування наночастинок у дистильованій воді проводили за допомогою ультразвукового диспергатора УЗДН-М750Т (20–25 кГц, 750 Вт) протягом 5 хв. Як модельний токсикант використовували ацетат свинцю виробництва “Макрохім” (Україна).

Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу через 21 добу від початку дослідження. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили з дотриманням правил відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [14] та Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [5].

У сироватці крові визначали активність аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), вміст загального білка, загального білірубину, сечовини і креатиніну за загальноприйнятими методами на напівавтоматичному аналізаторі HUMALYZER 2000 з використанням стандартних наборів реагентів фірми “Human” (Німеччина).

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського в програмному пакеті Statsoft STATISTICA. Порівнювали отримані величини з використанням непараметричного критерію Манна–Уїтні. Зміни вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Основні біохімічні показники функціонального стану печінки в щурів за умов впливу наночастинок SiO_2 з ацетатом свинцю представлено в таблиці.

Як показали результати наших досліджень, тритижневе введення щурам суспензії наночастинок SiO_2 не викликало достовірних змін активності в сироватці крові ензимів маркерів цитолізу – АлАТ і АсАТ, а також активності ЛФ. Також під впливом нано- SiO_2 не змінювалася суттєво здатність гепатоцитів до синтезу білка й азотовмісних продуктів. Зокрема, вміст загального білка, сечовини і креатиніну, а також загального білірубину в сироватці крові тварин, яким вводили наночастинок діоксиду кремнію, не відрізнявся від аналогічного показника у групі інтактних тварин.

На відміну від групи щурів, які отримували наночастинок SiO_2 , внутрішньошлункове введення ацетату свинцю призводило до вираженого цитолізу гепатоцитів, про що свідчило достовірне зростання активності маркерів цитолізу: АлАТ – на 113 %, АсАТ – на 50 % порівняно з контрольною групою тварин. На ураження печінки ацетатом свинцю також вказувало виражене підвищення активності ЛФ. На 21-шу добу експерименту активність ЛФ достовірно зростала на 42 % порівняно з аналогічним показником у групі інтактних тварин. Під впливом хімічного токсиканта спостерігали достовірне зменшення вмісту загального білка в сироватці крові (на 16 %) та збільшення вмісту загального білірубину (на 89 %) порівняно з такими показниками у групі контролю. На рівень сечовини і креатиніну введення ацетату свинцю достовірно не вплинуло.

Найбільш суттєво досліджувані показники змінювалися в сироватці крові тварин, яким вводили наночастинок діоксиду кремнію разом з ацетатом свинцю. У цьому випадку активність маркерних ензимів цитолізу була достовірно вищою порівняно з групою щурів, яким вводили тільки хімічний токсикант (активність АлАТ зростала на 56 %, а активність АсАТ – на 44 %). Спостерігали достовірне (на 37 %) зростання й активності ЛФ порівняно з аналогічним показником у групі тварин, яким вводили ацетат свинцю. На вміст загального білка, сечовини, креатиніну і білірубину в сироватці крові застосування комбінації “наночастинок+свинець” достовірного ефекту, порівняно з впливом тільки хімічного токсиканта, не справило.

Отже, наночастинок SiO_2 і ацетат свинцю взаємодіють синергічно в плані індукції цитолітичного пошкодження печінки. Це проявляється, зокрема, інтенсивнішим виходом у кров амінотрансфераз і лужної фосфатази у групі тварин,

Таблиця – Вплив наночастинок SiO₂ і ацетату свинцю на показники функціонального стану печінки (M±m, n=10)

Показник	Група тварин			
	контроль	наночастинки SiO ₂	ацетат свинцю	наночастинки SiO ₂ +ацетат свинцю
АлАТ, Од/л	57,59±2,28	62,19±2,19	122,91±8,48*	191,69±13,92**§
АсАТ, Од/л	143,70±2,46	152,50±2,81	216,26±18,57*	312,43±22,47**§
ЛФ, Од/л	406,61±33,16	509,76±27,01	576,01±36,83*	791,52±52,17**§
Загальний білок, г/л	66,28±2,81	58,18±2,04	55,41±1,68*	51,51±2,33*
Загальний білірубін, мкмоль/л	3,45±0,13	3,59±0,16	6,54±0,34*	8,83±1,10**
Сечовина, ммоль/л	5,08±0,80	3,85±0,48	3,45±0,17	3,36±0,21
Креатинін, мкмоль/л	56,15±2,82	59,43±3,33	55,15±2,60	56,85±2,34

Примітки:

- * – зміни достовірні порівняно з показниками контрольних тварин (p<0,05).
- # – зміни достовірні порівняно з показниками тварин, яким вводили наночастинки SiO₂ (p<0,05).
- § – зміни достовірні порівняно з показниками тварин, яким вводили ацетат свинцю (p<0,05).

яких піддавали комбінованому впливу наночастинок і свинцю, порівняно зі щурами, яким вводили тільки хімічний токсикант. Найбільш імовірним поясненням вказаного синергізму токсичності досліджуваних чинників може бути ефект посилення біодоступності іонів свинцю внаслідок їх транспорту через біологічні бар'єри у зв'язаній з наночастинок формі, а також можлива сумісна токсична дія свинцю і наночастинок на біологічні внутрішньоклітинні об'єкти. Наночастинок за рахунок своєї високорозвиненої поверхні й високої адсорбційної здатності можуть посилювати проникнення токсикантів в організм, тобто слугувати певною мірою суперпровідниками. З іншого боку, наночастинок

SiO₂, проникаючи в клітини і взаємодіючи з біополімерами (білками, ДНК, РНК), можуть викликати зміни активності ензимних систем детоксикації ксенобіотиків чи антиоксидантного захисту, що, у свою чергу, призведе до модифікації токсичного впливу хімічних токсикантів на клітини і тканини [11].

ВИСНОВОК. Наночастинок діоксиду кремнію, які можуть бути присутні у доквіллі й харчовій продукції як контамінанти, здатні посилювати гепатотоксичний ефект свинцю. Такий факт варто враховувати при гігієнічному нормуванні цього наноматеріалу в об'єктах навколишнього середовища.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Клестова З. С. Нанотехнології та біоризики (огляд літератури) / З. С. Клестова, А. М. Головка // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і Держ. наук.-дослід. контрол. ін-ту ветпрепаратів та кормових добавок. – 2014. – Вип. 15, № 2–3. – С. 329–339.
2. Микитюк М. В. Наночастинок та перспективи їх застосування в біології і медицині / М. В. Микитюк // Проблеми екології та медицини. – 2011. – № 5–6. – С. 41–49.
3. Нанотехнології у XXI столітті: стратегічні пріоритети та ринкові підходи до впровадження : монографія / Г. О. Андрощук, А. В. Ямчук, Н. В. Березняк [та ін.]. – К. : УкрІНТЕІ, 2011. – 275 с.
4. Наночастинок: важливість сьогодні, класифікація, використання в медицині, токсичність / І. А. Бан-

- дас, І. Я. Криницька, М. І. Куліцька, М. М. Корда // Мед. та клініч. хімія. – 2015. – 17, № 3 (64). – С. 123–129.
5. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
6. Порядок и методы оценки воздействия искусственных наночастиц и наноматериалов на токсическое действие химических веществ : метод. рек. МР 1.2.0054–11 / [Г. Г. Онищенко, В. А. Тутельян, И. В. Гмошинский и др.]. – М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 39 с.
7. Свинць – небезпечний політант. Проблема стара і нова / І. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха, С. П. Луговський [та ін.] // Суч. пробл. токсикології,

харчової та хімічної безпеки. – 2015. – № 3 (71). – С. 14–24.

8. Токсикологія аерозолів : монографія / Ю. І. Кундієв, М. М. Корда, М. О. Кашуба, О. В. Демецька. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – 256 с.

9. Трахтенберг І. М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості / І. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха // Укр. журн. з пробл. медицини праці. – 2013. – № 4 (37). – С. 62–74.

10. Чекман І. С. Нанотехнологии, наномедицина, нанофармакология, нанофармация: внедрение результатов в медицинскую практику / И. С. Чекман // Пробл. эндокринной патологии. – 2014. – № 1. – С. 80–94.

11. Чекман І. С. Наногенотоксикологія: вплив наночастинок на клітину / І. С. Чекман, М. О. Говоруха, А. М. Дорошенко // Укр. мед. часоп. – 2011. – № 1 (81), І/ІІ. – С. 30–35.

12. Черноусова С. Наночастинки в медицине [Электронный ресурс] / С. Черноусова, М. Еппле. – Режим доступа : http://www.nas.gov.ua/text/pdfNews/Chernousova_Epple_nano.pdf.

13. Mesoporous silica nanoparticles in nanotechnology / D. Douroumis, I. Onyesom, M. Maniruzzaman,

J. Mitchell // Crit. Rev. Biotechnol. – 2013. – 33 (3). – P. 229–245. [PubMed]

14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 56 p.

15. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice [Text] / K. Yamashita, Y. Yoshioka, K. Higashisaka, [et al.] // Nature Nanotechnology. – 2011. – 6. – P. 321–328.

16. Systemic distribution, nuclear entry and cytotoxicity of amorphous nanosilica following topical application. [Text] / H. Nabeshi, T. Yoshikawa, K. Matsuyama [et al.] // Biomaterials. – 2011. – 32. – № 11. – P. 2713–2724.

17. Ying Zhu. The biocompatibility of nanodiamonds and their application in drug delivery systems / Ying Zhu // The 7th International Nanotoxicology Congress "Nanotox2014": materials of the conference. – Antalya, Turkey, 2014. – P. 256.

18. Yang X. SiO₂ nanoparticles induce cytotoxicity and protein expression alteration in HaCaT cells / X. Yang, J. Liu, H. He // Part Fibre Toxicol. – 2010. – 7, № 1. – P. 1–10.

И. А. Бандас, М. И. Кулицкая, М. М. Корда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ НА ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ СВИНЦА

Резюме

Известная для наночастиц способность усиливать транспорт химических веществ и лекарственных средств в клетки и через барьеры организма делает актуальным вопрос о возможности потенцирования токсического действия химических контаминантов при их совместном поступлении в организм. Целью данной работы было исследовать способность наночастиц диоксида кремния влиять на гепатотоксичность свинца в эксперименте. В сыворотке крови крыс определяли активность аланин- и аспартатаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, содержание общего белка, общего билирубина, мочевины и креатинина. Установлено, что под влиянием наночастиц SiO₂ исследуемые показатели не испытывали достоверных изменений. Введение крысам ацетата свинца приводило к выраженному цитолизу гепатоцитов, о чем свидетельствовало достоверное повышение активности аланин- и аспартатаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, а также достоверное снижение содержания общего белка в сыворотке крови и рост содержания общего билирубина. Наиболее существенно исследуемые показатели менялись в сыворотке крови животных, которым вводили наночастицы вместе с ацетатом свинца. В этом случае активность маркерных ферментов цитолиза и щелочной фосфатазы была достоверно выше по сравнению с группой животных, которым вводили только химический токсикант. Сделан вывод, что наночастицы диоксида кремния, которые могут присутствовать в окружающей среде и пищевой продукции как контаминанты, способны усиливать гепатотоксический эффект свинца.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: наночастицы, диоксид кремния, свинец, крысы, гепатотоксичность.

THE EFFECT OF SILICON DIOXIDE NANOPARTICLES ON THE LEAD HEPATOTOXICITY

Summary

Nanoparticles are known to facilitate transport of chemicals and medications through membrane barriers into cells. This results in the raising of toxic effect when two contaminants act on the body at the same time. The aim of this study was to determine how silicon dioxide (SiO_2) nanoparticles affect the hepatotoxic properties of lead. Alanine and aspartate transaminases, alkaline phosphatase activities, as well as total protein, total bilirubin, creatinine and urea contents were measured in rat blood plasma. It was shown that SiO_2 nanoparticles did not significantly affect the above listed markers. Administration of lead acetate to the animals caused cytolysis of hepatocytes, as evidenced by significant increase of alanine and aspartate transaminases, alkaline phosphatase activities, along with significant decrease of total plasma protein and increase of total bilirubin levels. The increase of aminotransferases and alkaline phosphatase activities in animals that received both SiO_2 nanoparticles and lead acetate was significant compared to the animals that received only lead acetate. This suggests that SiO_2 nanoparticles, which are normally present in the environment and food products as contaminants, can enhance the negative hepatotoxic effects of lead.

KEY WORDS: nanoparticles, silicon dioxide, lead, rats, hepatotoxicity.

Отримано 28.04.16

Адреса для листування: І. А. Бандас, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.