

УДК 612.015.1-02:616-099:[546.284-31-022.532+661.852.712]

DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i3.8206

І. А. Бандас, М. І. Куліцька, Т. Я. Ярошенко, М. М. Корда

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

НАНОЧАСТИНКИ ДІОКСИДУ КРЕМНІЮ ПОСИЛЮЮТЬ ВИКЛИКАНИЙ СВИНЦЕМ ОКСИДАТИВНИЙ ТА НІТРООКСИДАТИВНИЙ СТРЕС

Вступ. Наночастинки широко використовують у наукових дослідженнях, промисловості та медицині. Характерна 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.

Мета дослідження – вивчити вплив наночастинок діоксиду кремнію на здатність хімічного токсиканта ацетату свинцю викликати оксидативний та нітрооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів.

Методи дослідження. Досліди проведено на 40 безпородних білих щурах-самцях масою 150–160 г, яких було поділено на 4 групи. Тваринам 1-ї (контрольної) групи щоденно внутрішньошлунково вводили фізіологічний розчин. Щури 2-ї групи отримували колоїдний розчин наночастинок діоксиду кремнію в дозі 50 мг/кг маси тіла. Тваринам 3-ї групи вводили ацетат свинцю у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг маси тіла (у перерахунку на свинець), 4-ї – протягом 3-х тижнів щоденно вводили розчин наночастинок діоксиду кремнію сумісно з ацетатом свинцю у вищезазначених дозах. У сироватці й печінці визначали сумарну активність NO-синтази, каталази, супероксиддисмутази, вміст NO_x , ТБК-активних продуктів, окисномодифікованих білків, відновленого глутатіону, церулоплазміну і загальну антиоксидну активність сироватки. Отримані показники обробляли статистично.

Результати й обговорення. Встановлено, що під впливом наночастинок діоксиду кремнію досліджувані показники не зазнавали достовірних змін. Введення щурам ацетату свинцю призводило до виражених змін усіх показників. Проте максимальні зміни показників зареєстровано у групі тварин на фоні сумісного введення наночастинок діоксиду кремнію й ацетату свинцю. У цьому випадку вміст ТБК-активних продуктів, NO_x , окисномодифікованих білків, відновленого глутатіону й активність супероксиддисмутази в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів достовірно змінювалися порівняно з аналогічними показниками у групі тварин, яким вводили тільки хімічний токсикант.

Висновок. Наночастинки діоксиду кремнію посилюють здатність хімічного токсиканта ацетату свинцю викликати оксидативний і нітрооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: наночастинки; діоксид кремнію; свинець; оксидативний та нітрооксидативний стрес; щури.

ВСТУП. Нанотехнології, наночастинки і наноматеріали, зважаючи на широке за масштабами та значне за обсягами використання багатьма країнами світу в різних сферах виробництва і побуту людини, набувають характеру нового глобального антропогенного чинника, який може становити потенційну небезпеку як для здоров'я населення, так і для стану екологічних систем [1]. Токсичні ефекти можуть реалізуватися як на тканинному рівні, після проникнення наночастинок у внутрішнє середовище організму та захоплення клітинами, так і опосередковано, за рахунок їх впливу на видовий склад, чисельність і

© І. А. Бандас, М. І. Куліцька, Т. Я. Ярошенко, М. М. Корда, 2017.

активність компонентів кишкового мікробіоценозу [2].

Одним із пріоритетних видів наноматеріалів є наноструктурний високодисперсний аморфний діоксид кремнію (SiO_2), який широко використовують у всезростаючих масштабах, зокрема у виробництві харчової продукції, медицині (переносник ліків), фармакології (сорбент) і косметології [3, 4].

Дані щодо токсичного впливу наночастинок SiO_2 є суперечливими. Так, деякі дослідження свідчать про наявність мінімальної токсичності пористого кремнію [5, 6] або про повну її відсутність [6, 7]. Проте X. Yang та співавт. стверджують, що наночастинки SiO_2 навіть у невисоких

дозах здатні проникати в ядро клітини та вбудуватись у фосфатний каркас ДНК, пригнічуючи реакції реплікації, транскрипції і проліферації [8].

Наночастинки відрізняються від багатьох інших шкідливих об'єктів ще й тим, що мають властивість проходити крізь біологічні бар'єри в межах організму, які не проникні для більших частинок [9]. При цьому адсорбовані на їх поверхні токсини можуть проникати у внутрішнє середовище клітини або впливати на мембранні циторецептори, ініціюючи імунну реакцію [10], що зумовлює актуальність вивчення токсикологічних властивостей наночастинок при їх надходженні в організм разом із традиційними контамінантами довкілля.

В Україні одним із глобальних і небезпечних забруднювачів довкілля є свинець. Цей метал має достатньо великі обсяги виробництва та широку сферу застосування, що зумовлює його надходження і поширення в різних об'єктах навколишнього природного середовища. Небезпека шкідливого впливу свинцю на здоров'я населення набула особливої актуальності після аварії на Чорнобильській АЕС, під час ліквідації якої використано сотні тисяч тонн металу, що при високій температурі на місці його застосування випаровувався і надходив у навколишнє середовище у вигляді аерозолів конденсації. Здатність свинцю до кумуляції в органах і тканинах, його висока біологічна активність становлять реальну загрозу для здоров'я людини [11].

У деяких літературних джерелах є припущення щодо можливості взаємодії наночастинок SiO_2 з пріоритетними контамінантами довкілля, такими як, наприклад, свинець, у результаті чого наночастинки за рахунок своєї добре розвиненої поверхні й високої адсорбційної здатності можуть певним чином взаємодіяти з ними і тим самим посилювати проникнення цих токсикантів в організм людини, тобто слугувати деякою мірою провідниками, модифікуючи їх токсичну дію. На можливість такого ефекту вказали автори робіт [12, 13], які виявили здатність наночастинок діоксиду титану призводити до накопичення токсичних елементів у ряді модельних біологічних систем *in vitro* та *in vivo*. У наших попередніх роботах в експериментах на щурах було показано, що наночастинки SiO_2 посилюють гепато-, нефро- і спленотоксичні ефекти ацетату свинцю [14, 15].

На сьогодні питання про біологічні ефекти наночастинок при їх надходженні в організм разом із традиційними токсикантами вивчено недостатньо.

Мета дослідження – вивчити вплив наночастинок SiO_2 на здатність хімічного токсиканта ацетату свинцю викликати оксидативний та ніт-

рооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 40 безпородних білих щурах-самцях масою 150–160 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Для виключення випадкових впливів усі тварини перебували в однакових умовах та досліджувалися в один і той самий час (зберігались сезонність і час доби). Усі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили з дотриманням правил відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [16] і Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [17].

Піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні щури (контроль); 2-га – щури, яким протягом 3-х тижнів щоденно внутрішньошлунково вводили колоїдний розчин наночастинок SiO_2 в дозі 50 мг/кг маси тіла тварини; 3-тя – тварини, яким протягом 3-х тижнів щоденно внутрішньошлунково вводили ацетат свинцю у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг маси тіла (у перерахунок на свинець); 4-та – щури, яким протягом 3-х тижнів щоденно вводили колоїдний розчин наночастинок SiO_2 сумісно з ацетатом свинцю у вищезазначених дозах [18]. Інтактним тваринам щоденно внутрішньошлунково вводили відповідну кількість фізіологічного розчину. Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу через 21 добу від початку досліду.

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 протягом 5 хв за допомогою ультразвукового диспергатора УЗДН-М750Т (20–25 кГц, 750 Вт). Як модельний токсикант використовували ацетат свинцю виробництва "Макрохім" (Україна).

Дослідженню підлягали сироватка крові й гомогенат печінки. У сироватці крові визначали загальний вміст нітратів і нітритів (NO_x) [19], рівень ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [20], окисномодифікованих білків (ОМБ) [21], активність каталази (КТ) [22], вміст відновленого глутатіону (Г-SH) [23], церулоплазміну (ЦП) [24] і загальну антиоксидну активність (ЗАА) [25]. У печінці визначали сумарну активність NO-синтази [26], активність супероксиддисмутази (СОД) [27] і рівень ТБК-АП [20].

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 показники оксидативного і нітрооксидативного стресу в сироватці крові й печінці щурів за умов впливу наночастинок SiO_2 з ацетатом свинцю наведено в таблиці.

Як показали результати наших досліджень, тритижневе введення щурам колоїдного розчину наночастинок SiO_2 у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини не викликало достовірних змін з боку показників інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення, функціонального стану системи синтезу оксиду азоту і системи антиоксидного захисту порівняно з аналогічними показниками у групі інтактних тварин.

На відміну від тварин, які отримували наночастинок SiO_2 , внутрішньошлункове введення ацетату свинцю призводило до достовірного зростання вмісту ТБК-АП як у плазмі крові, так і в печінці щурів – у 2,7 раза ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин. Введення ацетату свинцю також викликало окисну модифікацію як нейтральних, так і лужних амінокислот сироватки крові. На 21-шу добу експерименту вміст 2,4-динітрофенілгідразонів, що визначалися при 370 нм (відображає концентрацію альдегідо- і кетонітрофенілгідразонів нейтрального характеру), збіль-

шився в 1,6 раза ($p < 0,05$) порівняно з інтактними щурами, а тих, що визначалися при 430 нм (альдегідо- та кетонітрофенілгідразонів основного характеру), – в 2,9 раза ($p < 0,05$).

Як відомо, активність процесів ліпопероксидації та окисної модифікації білків залежить не тільки від інтенсивності утворення вільних радикалів у тканинах, а й від функціонального стану системи антиоксидного захисту [28]. З метою дослідження впливу наночастинок SiO_2 і ацетату свинцю на стан антиоксидної системи ми визначали активність каталази і супероксиддисмутази, вміст церулоплазміну та відновленого глутатіону і загальну антиоксидну активність плазми крові. Як показали результати наших досліджень, введення тваринам ацетату свинцю супроводжувалося глибокими порушеннями антиоксидної системи. Відомо, що з комплексу ферментів антиоксидної системи супероксиддисмутаза першою вступає в процес знешкодження супероксидного аніон-радикала, який утворюється в результаті надходження до організму токсичних чинників. Так, на 21-шу добу експерименту після введення хімічного токсиканта активність одного з найпотужніших антиоксидних ферментів організму – СОД знизилась у печінці в 1,9 раза ($p < 0,05$).

Збільшення в клітині концентрації вільних радикалів зумовлює зменшення активності СОД, можливо, внаслідок необоротного відновлення міді в активному центрі або в результаті окиснення в ньому функціональних груп, зокрема тіолових. Також, цілком імовірно, токсиканти

Таблиця – Вплив наночастинок SiO_2 і ацетату свинцю на показники оксидативного і нітрооксидативного стресу в сироватці крові й печінці щурів ($M \pm m$, $n=10$)

| Показник | Група тварин | | | |
|--------------------------------------|--------------|-----------------------------|---------------|---|
| | контроль | наночастинок SiO_2 | ацетат свинцю | наночастинок SiO_2 + ацетат свинцю |
| Сироватка крові | | | | |
| ТБК-АП, мкмоль/л | 6,73±0,19 | 6,85±0,19 | 18,26±0,35* | 24,76±0,41**\$ |
| ОМБ ₃₇₀ , мкмоль/мг білка | 0,95±0,05 | 1,06±0,06 | 1,50±0,09* | 1,91±0,09**\$ |
| ОМБ ₄₃₀ , мкмоль/мг білка | 0,55±0,04 | 0,64±0,05 | 1,61±0,09* | 2,19±0,17**\$ |
| ЦП, мг/л | 234,43±6,13 | 246,80±5,28 | 138,40±4,39* | 118,22±4,10**\$ |
| КТ, мкат/л | 0,73±0,03 | 0,70±0,03 | 0,52±0,02* | 0,36±0,01**\$ |
| Г-SH, ммоль/л | 3,10±0,19 | 2,93±0,21 | 1,73±0,16* | 1,15±0,12**\$ |
| ЗАА, % гальмування утворення ТБК-АП | 50,83±2,74 | 48,23±2,29 | 32,91±1,68* | 21,91±1,74**\$ |
| NO _x , ммоль/л | 3,69±0,26 | 4,08±0,38 | 8,06±0,41* | 10,82±0,55**\$ |
| Гомогенат печінки | | | | |
| ТБК-АП, мкмоль/кг | 4,79±0,12 | 5,94±0,19 | 13,05±0,50* | 23,81±1,28**\$ |
| СОД, ум. од./г | 37,05±1,72 | 38,95±1,58 | 19,40±0,89* | 10,61±0,59* |
| Каталаза, мкат/мг білка | 38,18±2,01 | 35,35±2,18 | 18,35±1,89* | 11,95±0,78**\$ |
| НО-синтаза, нмоль/мг білка·хв | 3,05±0,34 | 3,98±0,31 | 7,69±0,46* | 9,82±0,45**\$ |

Примітки:

- * – зміни достовірні порівняно з показниками інтактних тварин ($p < 0,05$).
- # – зміни достовірні порівняно з показниками щурів, яким вводили наночастинок SiO_2 ($p < 0,05$).
- \$ – зміни достовірні порівняно з показниками тварин, які отримували ацетат свинцю ($p < 0,05$).

викликають конформаційні зміни молекули ферменту, що призводить до втрати ним своїх функціональних властивостей. Одним із основних антиоксидантів плазми крові є церулоплазмін. Особливістю цього білка є висока стабільність до токсичної дії активних форм кисню, що дозволяє йому зберігати біологічну активність за умов їх інтенсивної генерації. Ми встановили достовірне зменшення ЦП в 1,7 раза ($p < 0,05$) через 21 добу після введення ацетату свинцю. Під впливом хімічного токсиканта спостерігали достовірне зниження активності КТ у сироватці крові (в 1,4 раза) і гомогенаті печінки (у 2,1 раза) та вмісту ще одного важливого антиоксиданта – Г-SH (на 44,2 %) ($p < 0,05$) порівняно з такими показниками у групі контролю. ЗАА плазми крові в щурів цієї ж групи достовірно зменшувалася на 35,3 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Найсуттєвіше досліджувані показники оксидативного стресу змінилися у тварин, яким вводили наночастинки SiO_2 сумісно з ацетатом свинцю. У цьому випадку вміст ТБК-АП збільшувався у плазмі крові (на 35,7 %) і печінці щурів (на 82,5 %) порівняно з групою тварин, яким вводили тільки хімічний токсикант. У сироватці крові щурів, яким вводили наночастинки SiO_2 сумісно з ацетатом свинцю, спостерігали достовірне зростання концентрації модифікованих вільними радикалами білків. Так, вміст OMB_{370} та OMB_{430} був достовірно вищим на 27,3 і 36,0 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з групою тварин, яким вводили лише ацетат свинцю.

Введення наночастинок SiO_2 сумісно з ацетатом свинцю призводило до достовірного зниження активності СОД у печінці (на 45,5 %) ($p < 0,05$), КТ у сироватці крові (на 32,7 %) і гомогенаті печінки (на 34,9 %), вмісту ЦП у сироватці крові (на 14,6 %), Г-SH (на 44,2 %) ($p < 0,05$) та ЗАА плазми крові (на 33,4 %) ($p < 0,05$) порівняно з такими показниками у групі тварин, яким вводили тільки ацетат свинцю.

Токсичне ураження печінки призводить до формування медіаторів запалення, основними з яких є прозапальні цитокіни, що можуть моделювати систему синтезу оксиду азоту в тканинах, зокрема спричиняти гіперактивацію індукцйбельної форми синтази оксиду азоту. Тому цікаво було дослідити вплив комбінованого застосування наночастинок SiO_2 й ацетату свинцю на загальну активність NO-синтази у печінці та вміст метаболітів оксиду азоту в крові. Як свідчать отримані результати, при введенні ацетату свинцю загальна активність NO-синтази в печінці різко (у 2,5 раза) підвищувалася порівняно з групою інтактних тварин. Ще більшою мірою активність ферменту зростала в щурів, яким ацетат свинцю вводили разом із наночастинками

SiO_2 , – в 1,3 раза ($p < 0,05$) порівняно з групою тварин, які отримували тільки хімічний токсикант.

Очевидно, активацією NO-синтази можна пояснити отримані нами результати, що свідчать про достовірне збільшення рівня метаболітів оксиду азоту – нітратів і нітритів – у сироватці крові щурів, яким вводили ацетат свинцю окремо та сумісно з наночастинками SiO_2 . Слід також зазначити, що у тварин, яким вводили наночастинки SiO_2 разом з ацетатом свинцю, показники вмісту NO_x були достовірно вищими, ніж у щурів, які отримували тільки хімічний токсикант. Ці дані вказують на те, що при дії ацетату свинцю сумісно з наночастинками SiO_2 індукцйбельна форма синтази оксиду азоту індукується більшою мірою, ніж при дії його без наночастинок. Можна припустити, що порушення обміну NO, поряд з оксидативним стресом, є однією з ключових ланок у патогенезі ураження печінки при дії наночастинок SiO_2 сумісно з ацетатом свинцю.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що наночастинки SiO_2 посилюють здатність хімічного токсиканта ацетату свинцю викликати оксидативний та нітрооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів.

Такий синергізм токсичних ефектів досліджуваних чинників, найімовірніше, зумовлений здатністю наночастинок SiO_2 абсорбувати на своїй поверхні велику кількість токсичних сполук та сприяти їх транспорту до тканин і клітин, зокрема в гепатоцити. Також, можливо, наночастинки SiO_2 безпосередньо змінюють метаболічні шляхи в клітинах, призводячи до токсифікації ксенобіотиків хімічної природи.

Токсичність наночастинок залежить від їх концентрації, площі поверхні, а також від середовища, в якому вони перебувають. Зі зменшенням розмірів частинок токсичність зростає. Результати експериментів свідчать про здатність наночастинок з неймовірною легкістю долати захисні механізми і перепони організму. Так, частки звичайного пилу в легені потрапити не можуть. Клітини так званого миготливого епітелію, що вистилають дихальні шляхи, мають особливі волоски-вії, які виводять частки пилу, що потрапили з повітрям у легені, назовні [29]. Однак у випадку з наночастинками вони, очевидно, безсилі. Усередині організму будь-яке стороннє тіло зустрічає і нейтралізує ціла армія клітин імунної системи. Але наночастинки і тут практично не вразливі. Проникаючи все далі, вони викликають цілий каскад біохімічних реакцій [29].

В основі взаємодії високодисперсних діоксидів кремнію (наночастинок) з біомолекулами і біооб'єктами, насамперед із мембранами, лежить механізм їх активної адсорбції на поверхні

клітин, що здійснюється, як прийнято вважати, у дві стадії з участю електростатичних зв'язків, надмембранного матриксу і фосфоліпідів власної мембрани [30].

Перша стадія – швидка адсорбція негативно заряджених наночастинок клітинною поверхнею через четвертинні амонієві групи фосфоліпідів, що містять лецитин і сфінгомієлін, з подальшим зміцненням цього контакту водневими зв'язками і силами вандерваальсового тяжіння. Друга стадія супроводжується денатурацією мембранних протеїнів, ступінь вираження якої залежить від співвідношення розмірів наночастинок і протеїнових молекул, що призводить до активації і подальшої загибелі частини клітин внаслідок порушення трансмембранного вибіркового транспорту іонів.

Ряд дослідників стверджує [29, 31], що наночастинки, потрапляючи в організм, здатні пошкоджувати біомембрани, впливати на функції біомолекул, у тому числі молекул генетичного апарату клітини та клітинних органел (мітохондрій), що призводить до порушення регуляторних процесів і загибелі клітини. Механізм впливу нанооб'єктів на живі структури пов'язаний з утворенням в їх присутності вільних радикалів,

у тому числі пергідратів, а також із виникненням комплексів з нуклеїновими кислотами. Ефект для живого організму проявляється розвитком запальних процесів в окремих органах і тканинах та зниженням імунітету.

Механізми свинецьіндукованого оксидативного стресу перш за все включають пошкодження клітинної мембрани та ДНК, а також вплив на ферментативні (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа) і неферментативні антиоксидантні ланки, такі, як тіоли. Відомо, що поліненасичені жирні кислоти, що входять до складу клітинних мембран, дуже схильні до взаємодії з АФК та переоксидації, що порушує ключові функції клітинної мембрани. Деякі дослідження *in vitro* та *in vivo* показали, що окиснювальне пошкодження, викликане свинцем, значною мірою сприяє посиленню крихкості мембран еритроцитів при свинцевій інтоксикації [32].

ВИСНОВОК. Наночастинки діоксиду кремнію посилюють здатність хімічного токсиканта ацетату свинцю викликати оксидативний і нітрооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Чекман І. С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування / І. С. Чекман // Укр. біохім. журн. – 2009. – **81**, № 1. – С. 122–129.
2. Mesoporous silica nanoparticles enhance MTT formazan exocytosis in HeLa cells and astrocytes / M. Fischella, H. Dabboue, S. Bhattacharyya [et al.] // *Toxicol. In Vitro*. – 2009. – **23**, No. 4. – P. 697–703.
3. Mesoporous silica nanoparticles in nanotechnology / D. Douroumis, I. Onyesom, M. Maniruzzaman, J. Mitchell // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2013. – **33**(3). – P. 229–245. [PubMed].
4. Нові можливості застосування наночастинок кремнію у медицині та фармації / І. С. Чекман, Л. І. Казак, О. В. Ніцак, Є. Ф. Воронін // *Вісн. фармакології та фармації*. – 2010. – № 4. – С. 8–14.
5. In vivo delivery of a peptide, ghrelin antagonist, with mesoporous silicon microparticles / M. Kilpelainen, J. Riikonen, M. A. Vlasova [et al.] // *J. Control. Release*. – 2009. – **137**. – P. 166–170.
6. Пористый кремний и его применение в биологии и медицине / О. И. Ксенофонтова, А. В. Васин, В. В. Егоров [и др.] // *Журн. техн. физики*. – 2014. – **84**, вып. 1. – С. 67–78.
7. Evaluation of mammalian cell adhesion on surface-modified porous silicon / S. P. Low, K. A. Williams, L. T. Canham, N. H. Voelcker // *Biomaterials*. – 2006. – **27**. – P. 4538–4546.
8. SiO₂ nanoparticles induce cytotoxicity and protein expression alteration in HaCaT cells / X. Yang, J. Liu, H. He [et al.] // *Part Fibre Toxicol.* – 2010. – **19** (7;1). – P. 1–10.
9. Ryman-Rasmussen J. P. Penetration of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties / J. P. Ryman-Rasmussen, J. E. Riviere, N. A. Monteiro-Riviere // *Toxicol. Sci.* – 2006. – **91**. – P. 159–165.
10. The importance of an endotoxin-free environment during the production of nanoparticles used in medical applications / H. Vallhov, J. Qin, S. M. Johansson [et al.] // *Nano Lett.* – 2006. – **6**. – P. 1682–1686.
11. Свинець – небезпечний політант. Проблема стара і нова / І. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха, С. П. Луговський [та ін.] // *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки*. – 2015. – № 3 (71). – С. 14–24.
12. Enhanced bioaccumulation of cadmium in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles / X. Zhang, H. Sun, Z. Zhang [et al.] // *Chemosphere*. – 2007. – **67**, № 1. – P. 160–166.
13. Influence of titanium dioxide nanoparticles on speciation and bioavailability of arsenite / H. Sun, X. Zhang, Z. Zhang [et al.] // *Environ. Pollut.* – 2009. – **157**, № 4. – P. 1165–1170.
14. Бандас І. А. Вплив наночастинок діоксиду кремнію на гепатотоксичність свинцю / І. А. Бандас,

- М. І. Куліцька, М. М. Корда // Мед. та клініч. хімія. – 2016. – **18**, № 2 (67). – С. 17–21.
15. Бандас І. А. Структурні зміни печінки, нирок та селезінки щурів при дії наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю / І. А. Бандас, М. І. Куліцька, М. М. Корда // Вісн. проблем біології і медицини. – 2017. – Вип. 1 (135). – С. 322–327.
16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 56 p.
17. 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.
18. 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.
19. Ridnour L. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media / L. Ridnour, J. E. Sim, M. Hayward [et al.] // *Anal. Biochem.* – 2000. – **281**. – P. 223–229.
20. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // *Лаб. дело.* – 1988. – № 11. – С. 41–43.
21. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // *Буковин. мед. вісн.* – 1998. – **2**, № 1. – С. 156–158.
22. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
23. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl group / G. L. Ellman // *Arch of Bioch. and Biophys.* – 1959. – № 82. – P. 70–77.
24. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
25. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp [et al.] // *Clin. Sci. and Mol. Med.* – 1974. – **47**. – P. 215–222.
26. Stuehr D. N. Hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine / D. Stuehr, N. S. Kwon, C. Nathan [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1991. – **266**. – P. 6259–6263.
27. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // *Лаб. дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
28. Oberdörster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass / E. Oberdörster // *Environ. Health Perspect.* – 2004. – Vol. 112. – P. 1058–1062.
29. Наночастиці и нанотехнологии в медицине сегодня и завтра / Л. Ф. Абаева, В. И. Шумский, Е. Н. Петрицкая [и др.] // *Альм. клинич. медицини.* – 2010. – № 22. – С. 10–16.
30. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / под ред. А. А. Чуйко. – К. : Наукова думка, 2003. – 230 с.
31. Чекман І. С. Наногенотоксикологія: вплив наночастинок на клітину / І. С. Чекман, М. О. Говоруха, А. М. Дорошенко // *Укр. мед. часоп.* – 2011. – № 1 (81), I/II. – С. 30–35.
32. Sharma V. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems / V. Sharma, S. Singh, N. J. Siddiqi // *BioMed Research International* 2014. Режим доступу: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/640754/>

REFERENCES

1. Chekman, I.S. (2009). Nanochastynky: vlastyvoli ta perspektyvy zastosuvannia [Nanoparticles: properties and usage perspectives]. *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal – Ukrainian Biochemistry Journal*, 1 (81), 122-129 [in Ukrainian].
2. Fisichella, M., Dabboue, H., & Bhattacharyya, S. (2009). Mesoporous silica nanoparticles enhance MTT formazan exocytosis in HeLa cells and astrocytes. *Toxicol. In Vitro*, 23 (4), 697-703.
3. Douroumis, D., Onyesom, I., Maniruzzaman, M. & Mitchell, J. (2013). Mesoporous silica nanoparticles in nanotechnology. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 33 (3), 229-245 [PubMed].
4. Chekman, I.S., Kazak, L.I., Nitsak, O.V., & Voronin, Ye.F. (2010). Novi mozhlyvosti zastosuvannia nanochastynok kremniyu u medytsyni ta farmatsii [New possibilities of using silicon nanoparticles in medicine and pharmacy]. *Visnyk farmakolohii ta farmatsii – Journal of Pharmacology and Pharmacy*, 4, 8-14 [in Ukrainian].
5. Kilpelainen, M., Riikonen, J., Vlasova, M.A., Huotari, A., Lehto, V.P., Salonen, J., Herzig, K.H., Jarvinen, K. (2009). In vivo delivery of a peptide, ghrelin antagonist, with mesoporous silicon microparticles. *J. Control. Release*, 137, 166-170.
6. Ksenofontova, O.I., Vasin, A.V., Yegorov, V.V., Bobyl, A.V., Soldatenkov, F.Yu., Terukov, Ye.I., Ulin, V.P., Ulin, N.V., & Kiselev, O.I. (2014). Poristy kremniy i yego primeneniye v biologii i meditsine [Porous silicon and its usage in biology and medicine]. *Zhurnal tekhnicheskoy fiziki – Journal of Technical Physics*, 1 (84), 67-78 [in Russian].
7. Low, S.P., Williams, K.A., Canham, L.T., & Voelcker, N.H. (2006). Evaluation of mammalian cell adhesion on surface-modified porous silicon. *Biomaterials*, 27, 4538-4546.
8. Yang, X., Liu, J., He, H., Zhou, L., Gong, C., Wang, X., Yang, L., Yuan, J., Huang, H., He, L., Zhang, B., & Zhuang, Z. (2010). SiO₂ nanoparticles induce cyto-

toxicity and protein expression alteration in HaCaT cells. *Part Fibre Toxicol.*, 19 (7;1), 1-10.

9. Ryman-Rasmussen, J.P., Riviere, J.E., & Monteiro Riviere, N.A. (2006). Penetration of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties. *Toxicol. Sci.*, 91, 159-165.

10. Vallhov, H., Qin, J., & Johansson, S.M. (2006). The importance of an endotoxin-free environment during the production of nanoparticles used in medical applications. *Nano Lett.*, 6, 1682-1686.

11. Trakhtenberh, I.M., Dmytrukha, N.M., & Luhovskiy, S.P. (2015). Svynets – nebezpechnyi polutant. Problema stara i nova [Lead is a dangerous pollutant. The problem is old and new.]. *Suchasni problemy toksykologii, kharchovoi ta khimichnoi bezpeky – Current Issues of Toxicology, Food and Chemical Safety*, 3 (71), 14-24 [in Ukrainian].

12. Zhang, X., Sun, H., & Zhang, Z. (2007). Enhanced bioaccumulation of cadmium in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles. *Chemosphere*, 67 (1), 160-166.

13. Sun, H., Zhang, X., & Zhang, Z. (2009). Influence of titanium dioxide nanoparticles on speciation and bioavailability of arsenite. *Environ. Pollut.*, 157 (4), 1165-1170.

14. Bandas, I.A., Kulitska, M.I., & Korda M.M. (2016). Vplyv nanochastynok dioksydu kremniu na hepatotoksichnist svyntsiu [The effect of silicon dioxide nanoparticles on the lead hepatotoxicity]. *Medychna ta klinichna khimia – Medical and Clinical Chemistry*, 2 (67) (18), 17-21 [in Ukrainian].

15. Bandas, I.A., Kulitska, M.I., & Korda M.M. (2017). Strukturni zminy pechinky, nyrok ta selezinky shchuriv pry dii nanochastynok dioksydu kremniu ta atsetatu svyntsiu [Structural changes in liver, kidneys and spleen of rats affected by nanoparticles of silicon dioxide and lead acetate]. *Visnyk problem biologii i medytsyny – Journal of Problems in Biology and Medicine*, 1 (135), 322-327 [in Ukrainian].

16. (1986) *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. – Council of Europe, Strasbourg.

17. Kozhemiakin, Yu.M., Khromov, O.S., Filonenko, M.A., & Saifetdinova, H.A. (2002). *Naukovo-praktychni rekomendatsii z utrymannia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy [Scientific and practical recommendations for care and use of laboratory animals]*. Kyiv: Avitsena [in Ukrainian].

18. Onishchenko, G.G., Tutelian, V.A., & Gmoshinskiy, I.V. (2011). *Poryadok i metody otsenki vozdeystvia iskusstvennykh nanochastits i nanomaterialov na toksicheskoye deystvie khimicheskikh veshchestv: metodicheskie rekomendatsii MR 1.2.0054-11 [Order and methods for evaluation of the influence of artificial nanoparticles and nanomaterials on the toxicity of chemicals: methodological recommendations MR 1.2.0054-11]*. Moscow: Federalnyy tsentr gigieny i epidemiologii Rospotrebnadzora [in Russian].

19. Ridnour, L., Sim, J.E. & Hayward, M. (2000). A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media. *Anal. Biochem.*, 281, 223-229.

20. Andreyeva, L.I., Kozhemyakin, L.A., & Kishkun A.A. (1988). Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy [Modification of the method of lipid peroxides determination by the test with thiobarbituric acid]. *Laboratornoye delo – Laboratory Work*, 11, 41-43 [in Russian].

21. Meshchyshen, I.F. (1998). Metod vyznachennia oksyliuvalnoi modyfikatsii bilkiv plazmy (syrovatky) krovi [Method of determination of oxidative modification of plasma (blood serum) proteins]. *Bukovynskyi medychnyi visnyk – Bukovynian Medical Journal*, 1 (2), 156-158 [in Ukrainian].

22. Koroliuk, M.A., Ivanova, L.I., & Mayorova, I.G. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method of catalase activity determination]. *Laboratornoye delo – Laboratory Work*, 1, 16-19 [in Russian].

23. Ellman, G.L. (1959). Tisne sulfhydryl group. *Arch. of Bioch. and Biophys.* (82), 70-77.

24. Kolb, V.G., & Kamyshnikov, V.S. (1982). *Spravochnik po klinicheskoy khimii [Manual of Clinical Chemistry]*. Minsk: Belarus[in Russian].

25. Stock, J., Gutteridge, J.M. & Sharp, R.J. (1974). Assay using brain homogenate for measuring the anti-oxidant activity of biological fluids. *Clin. Sci. and Mol. Med.*, 47, 215-222.

26. Stuehr, D.N., Kwon, N.S. & Nathan, C. (1991). Hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *J. Biol. Chem.*, 266, 6259-6263.

27. Chevari, S., Chaba, I., & Sekei, Y. (1985). Rol superoksiddismutazy v oksidativnykh protsessakh kletki i metod opredeleniya yeye v biologicheskoy materiyali [Importance of superoxide dismutase in oxidative processes of a cell and method of its determination in biological material]. *Laboratornoye delo – Laboratory Work*, 11, 678-681 [in Russian].

28. Oberdörster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environ. Health Perspect.*, 112, 1058-1062.

29. Abayeva, L.F., Shumskiy, V.I., Petritskaya, E.N., Rogatkin, D.A., & Lyubchenko, P.N. (2010). Nanochastitsy i nanotekhnologii v meditsine segodnya i zavtra [Nanoparticles and nanotechnologies in medicine today and tomorrow]. *Almanakh klinicheskoy meditsyny – Almanac of Clinical Medicine*, 22, 10-16 [in Russian].

30. Chuyko, A.A. (Ed.). (2003). *Meditsinskaya khimiya i klinicheskoye primenenie dioksida kremniya [Medical chemistry and clinical use of silicon dioxide]*. Kyiv: Naukova dumka [in Russian].

31. Chekman, I.S., Hovorukha, M.O., & Doroshenko, A.M. (2011) Nanohenotoksykologhiia: vplyv nanochastynok na klitynu [Nanogenotoxicology: the influence of nanoparticles on the cell]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys – Ukrainian Medical Journal*, 1 (81), I/II, 30-35 [in Ukrainian].

32. Sharma, B., Singh, S., Siddiqi, N.J. (2014). Bio-medical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. *Bio Med. Research International*. Retrieved from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/640754/>

НАНОЧАСТИЦЫ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ УСИЛИВАЮТ ВЫЗВАННЫЙ СВИНЦОМ ОКСИДАТИВНЫЙ И НИТРООКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС

Резюме

Вступление. Наночастицы широко используют в научных исследованиях, промышленности и медицине. Характерная 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.

Цель исследования – изучить влияние наночастиц диоксида кремния на способность химического токсиканта ацетата свинца вызывать оксидативный и нитрооксидативный стресс в сыворотке крови и печени экспериментальных крыс.

Методы исследования. Опыты проведены на 40 беспородных белых крысах-самцах массой 150–160 г, которые были разделены на 4 группы. Животным 1-й (контрольной) группы ежедневно внутрижелудочно вводили физиологический раствор. Крысы 2-й группы получали коллоидный раствор наночастиц диоксида кремния в дозе 50 мг/кг массы тела. Животным 3-й группы вводили ацетат свинца в виде водного раствора в дозе 20 мг/кг массы тела (в пересчете на свинец), 4-й – в течение 3-х недель ежедневно вводили раствор наночастиц диоксида кремния совместно с ацетатом свинца в вышеупомянутых дозах. В сыворотке и печени определяли суммарную активность NO-синтазы, каталазы, супероксиддисмутазы, содержание NO_x, ТБК-активных продуктов, окислительномодифицированных белков, восстановленного глутатиона, церулоплазмину и общую антиоксидантную активность сыворотки. Полученные показатели обрабатывали статистически.

Результаты и обсуждение. Установлено, что под влиянием наночастиц диоксида кремния исследуемые показатели не испытывали достоверных изменений. Введение крысам ацетата свинца приводило к выраженным изменениям всех показателей. Однако максимальные изменения показателей зарегистрировано в группе животных на фоне совместного введения наночастиц диоксида кремния и ацетата свинца. В этом случае содержание ТБК-активных продуктов, NO_x, окислительномодифицированных белков, восстановленного глутатиона и активность супероксиддисмутазы в сыворотке крови и гомогенате печени крыс достоверно изменялись по сравнению с аналогичными показателями в группе животных, которым вводили только химический токсикант.

Вывод. Наночастицы диоксида кремния усиливают способность химического токсиканта ацетата свинца вызывать оксидативный и нитрооксидативный стресс в сыворотке крови и печени экспериментальных крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: наночастицы; диоксид кремния; свинец; оксидативный и нитрооксидативный стресс; крысы.

I. A. Bandas, M. I. Kulitska, T. Ya. Yaroshenko, M. M. Korda
I. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

SILICONE DIOXIDE NANO-PARTICLES ENHANCE TOXICITY OF LEAD ON OXIDATIVE AND NITRO-OXIDATIVE STRESS

Summary

Introduction. Nanoparticles are widely used in scientific research, industry and medicine. The established capability of nanoparticles to increase the transport of chemicals and drugs into cells and through the body barriers makes the possibility of potentiating the chemical contaminants toxicity in case of their simultaneous intake an urgent matter.

The aim of the study – to learn the effect of silicon dioxide nanoparticles on the ability of chemical lead acetate toxicant to cause oxidative and nitro-oxidative stress in blood serum and liver of experimental rats.

Research Methods. Experiments were conducted on 40 white outbred male rats, 150–160 g in weight, which were divided into 4 groups. Animals of the group (control) 1 were daily administered with saline solution intragastrically.

cally. The rats of the group 2 were administered with colloidal solution of silicon dioxide nanoparticles in a dose of 50 mg/kg of body weight. Animals of the group 3 were injected with lead acetate in aqueous solution in a dose of 20 mg/kg of body weight (expressed as lead), the group 4 – with solution of silicon dioxide nanoparticles with lead acetate daily during 3 weeks at the same doses. The total activity of NO-synthase, catalase, superoxide dismutase, NO_x content, thiobarbituric acid reactive substances, oxidized modified proteins, reduced glutathione, ceruloplasmin and total serum antioxidant activity were determined in serum and liver. The obtained parameters were statistically processed.

Results and Discussion. It was proved that silicon dioxide nanoparticles did not influence the studied parameters considerably. The administration of lead acetate to rats caused significant changes of all indices. However, the maximum changes of the parameters were evidenced in the group of animals in cases of simultaneous administration of silicon dioxide nanoparticles and lead acetate. In that case, the content of thiobarbituric acid reactive substances, NO_x, oxidized modified proteins, reduced glutathione, and superoxide dismutase activity in blood serum and liver homogenate of rats varied significantly compared with the parameters of the group of animals that were administered with the chemical toxicant only.

Conclusion. Silicon dioxide nanoparticles enhance the capability of the chemical lead acetate toxicant to cause oxidative and nitro-oxidative stress in blood serum and liver of the experimental rats.

KEY WORDS: nanoparticles; silicon dioxide; lead; oxidative and nitro-oxidative stress; rats.

Отримано 18.07.17

Адреса для листування: І. А. Бандас, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: bandas@tdmu.edu.ua.