

УДК 612.014.46:546.57]:577.15

Н.Й. Андрійчук¹, Л.І. Власик^{1,2}**ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА ДЕКАЕДРИЧНОЇ ФОРМИ НА СТАН СИСТЕМИ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ЩУРІВ**Буковинський державний медичний університет¹, м. Чернівці
Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя^{1,2}, м. Чернівці

Резюме. Проведена оцінка змін біохімічних показників крові та печінки піддослідних щурів, що виникли внаслідок підгострого впливу наночастинок срібла (НЧС) декаедричної форми, отриманих методом фотостимульованого синтезу. У результаті внутрішньоочеревинного введення щурам срібних нанодексаедрів розміром 45 нм у дозах 5 та 10 мг/кг спостерігали дозозалежне зростання малонового альдегіду (МА) та різнонаправлених змін активностей каталази (КАТ) та глутатіонпероксидази (ГП) у крові та печінці тварин. Вияв-

лені зміни активності ГП, КАТ та рівня МА свідчать про розбалансування адаптаційних механізмів організму, що може бути пов'язаним із наростанням оксидативного стресу. Крім цього, внутрішньоочеревинне введення НЧС декаедричної форми розміром 45 нм різних доз призводило до вираженого дозозалежного зростання активності лужної фосфатази та холестеролу.

Ключові слова: наночастинок срібла, антиоксидантна система, дозозалежність.

Вступ. В останні роки широке застосування знаходять наночастинок срібла (НЧС) декаедричної форми, які активно використовують в оптоелектроніці, біологічному міченні, створенні сонячних батарей, різноманітних наукових дослідженнях та інших галузях [5, 6]. Завдяки особливим фізико-хімічним властивостям та унікальним оптичним властивостям (інтенсивній вузькій смузі плазмового розсіювання та поглинання), добрій відтворюваності синтезу, високій стабільності розчинів срібні нанодексаедри є перспективним матеріалом для створення на їх основі оптичних біосенсорів і біоміток [2]. Незважаючи на поширене застосування наносрібла, у джерелах літератури все ще бракує інформації щодо дослідження впливу на живі організми НЧС саме декаедричної форми.

Відомо, що токсичність наночастинок зумовлена, насамперед, розвитком окисного стресу і накопиченням вільнорадикальних продуктів внаслідок окиснення білків, пероксидації ліпідів та пошкодження ДНК, що може призводити до розвитку запальної реакції, апоптозу та некрозу клітин [4]. Хронічний та субхронічний вплив НЧС сферичної форми характеризується змінами біохімічних показників крові, а саме збільшенням активності лужної фосфатази, зростанням білка, гемоглобіну та зменшенням загального білка [7-10]. Однак даних стосовно дії НЧС декаедричної форми в доступній літературі немає [1].

Мета дослідження. Провести оцінку змін біохімічних показників крові та печінки піддослідних щурів, що виникли внаслідок підгострого впливу *in vivo* НЧС декаедричної форми, отриманих методом фотостимульованого синтезу.

Матеріал і методи. Досліди проводили на 40 статевозрілих щурах із дотриманням вимог біоетики, відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2011), які узгоджені з положенням Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з дослідницькими та іншими цілями (Страсбург, 1986). Евтаназія тварин здійснювалася згідно з діючими рекомендаціями та

етичними стандартами у стані наркозу згідно із законом України № 3447-1 від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Чотирьом групам тварин (по вісім щурів у кожній) щоденно, протягом 14 днів, внутрішньоочеревинно вводили розчин НЧС у концентраціях 10, 5, 1 та 0,1 мг/кг. П'ята група – біологічний контроль. На 14-й день тварин було виведено з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

Наносрібло отримували шляхом хімічного відновлення іонів Ag⁺ натрій боргідридом за наявності натрію цитрату та поліакрилової кислоти, далі здійснювали фотохімічний вплив матрицею світлодіодів із довжиною хвилі 470 нм [2]. Дослідження просвічувальної електронної мікроскопії показали, що отримані наноматеріали мають структуру плоских декаедрів із поперечним діаметром близько 45 нм та висотою 30-40 нм. Як стабілізатор використовували полівінілпіролідон.

Інтенсивність показників вільнорадикального окиснення (ВРО) ліпідів оцінювали за вмістом малонового альдегіду (МА) у крові та тканині печінки (гомогенізацію тканин печінки проводили в скляному гомогенізаторі під візуальним контролем: 120 мг тканини в 1,2 мл 0,05 М Трис-НСІ буфера (рН-7,4)). Стан протирадикального захисту оцінювали за активністю каталази (КАТ) та показниками глутатіонпероксидази (ГП) [3]. Активність лужної фосфатази (ЛФ), рівень холестеролу, білка та гемоглобіну визначали за допомогою стандартних тест-наборів ТОВ «Філіст-Діагностика» та ПрАТ «Реагент». Отримані результати оброблені за допомогою програми Biostat із використанням t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Серед продуктів ВРО ліпідів, які утворюються в результаті повторних атак окисників на ненасичені жирні кислоти, ключове місце займає МА. Збільшення концентрації МА в крові піддослідних тварин вказує на негативний дозозалежний вплив розчину НЧС. Так, у результаті введення розчину срібних нанодексаедрів виявлено зростан-

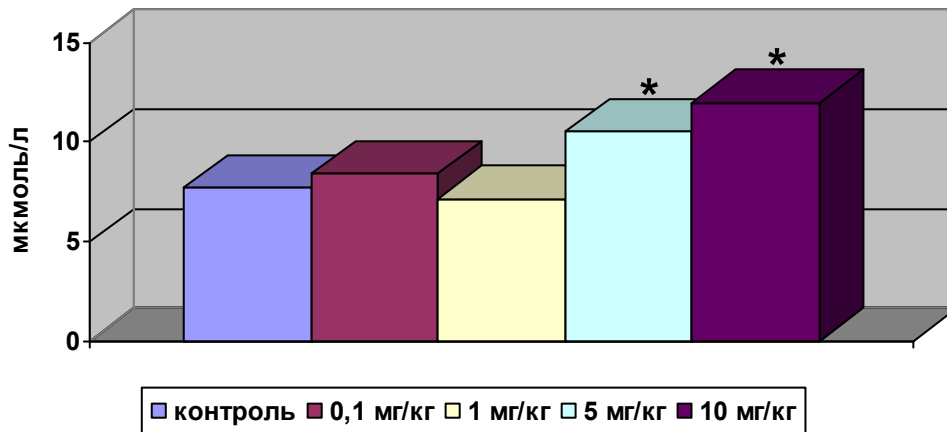


Рис. 1. Вміст малонового альдегіду в крові щурів за умов підгострого впливу різних доз НЧС декаедричної форми

Примітка. * – P<0,05 відносно контролю

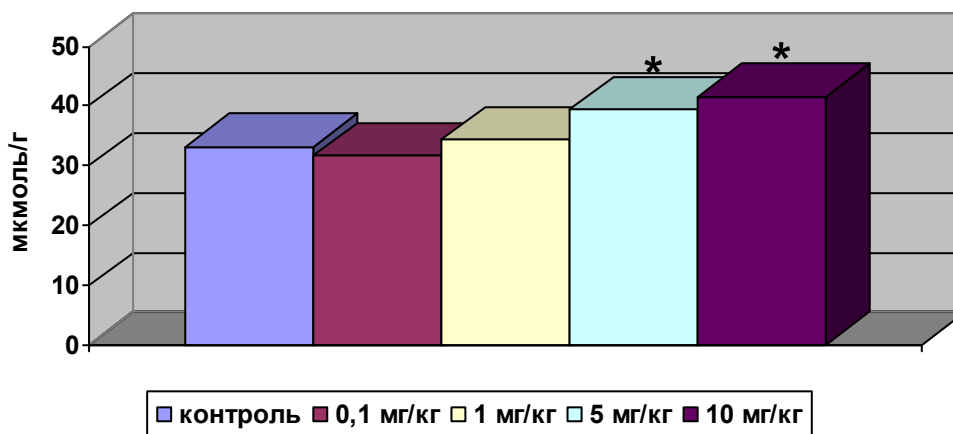


Рис. 2. Вміст малонового альдегіду в тканині печінки щурів за умов підгострого впливу різних доз НЧС декаедричної форми

Примітка. * – P<0,05 відносно контролю

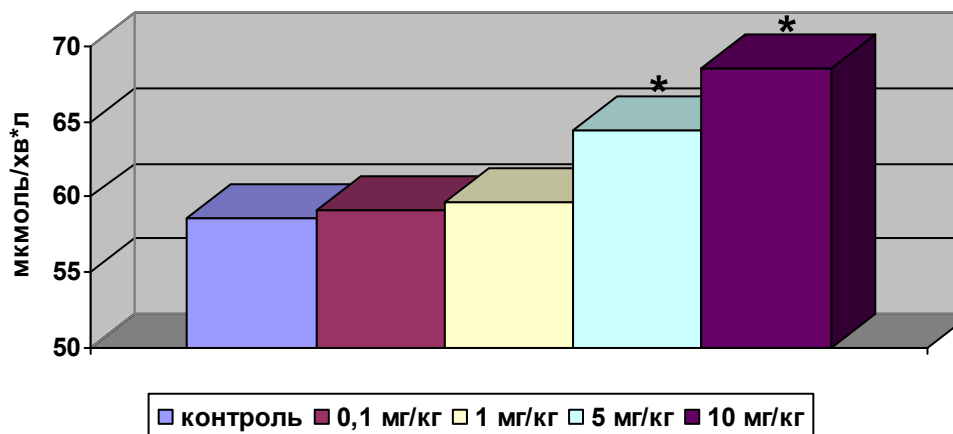


Рис. 3. Активність каталази в крові щурів за умов підгострого впливу різних доз НЧС декаедричної форми

Примітка. * – P<0,05 відносно контролю

ня рівня МА на 37 % та на 56 % за доз 5 та 10 мг/кг відповідно (рис. 1).

При дослідженні концентрації МА в гомогенаті печінки також спостерігали дозозалежне зростання цього показника. Так, його рівень збі-

льшився в тканині печінки щурів за уведення двох найбільших доз розчину НЧС на 18 та 25 % відповідно (рис. 2).

Одним із основних ферментів антиоксидантної системи є КАТ. При дослідженні каталазної

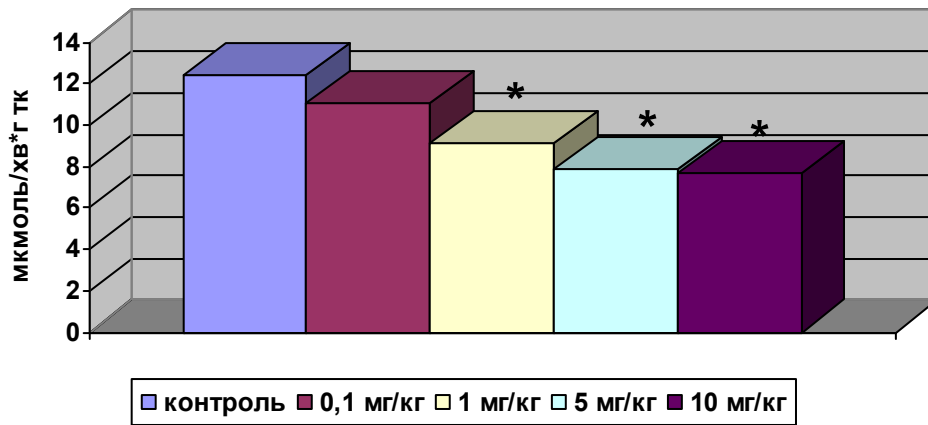


Рис. 4. Активність каталази в тканині печінки щурів за умов підгострого впливу різних доз НЧС декаедричної форми
Примітка. * – P<0,05 відносно контролю

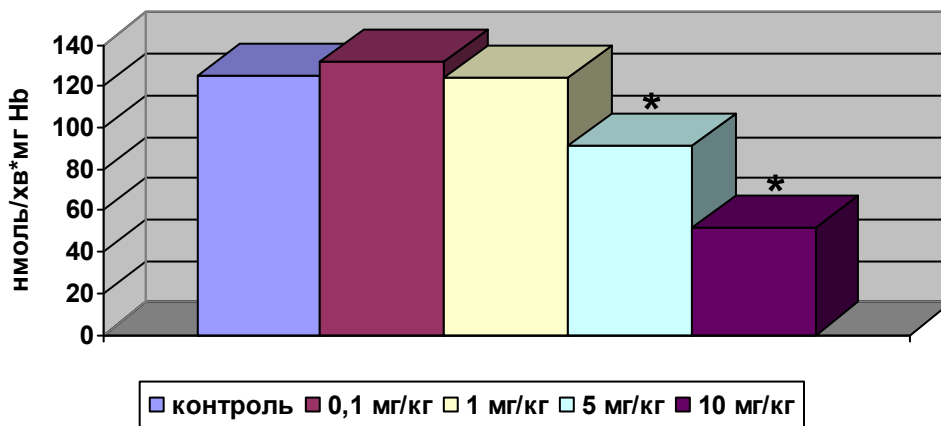


Рис. 5. Активність глутатіонпероксидази в крові щурів за умов підгострого впливу різних доз НЧС декаедричної форми
Примітка. * – P<0,05 відносно контролю

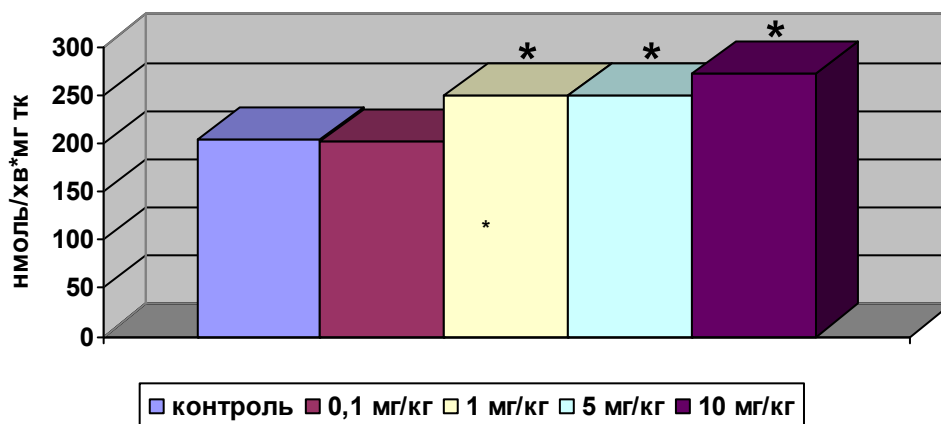


Рис. 6. Активність глутатіонпероксидази в тканині печінки щурів за умов підгострого впливу різних доз НЧС декаедричної форми
Примітка. * – P<0,05 відносно контролю

активності крові піддослідних щурів виявлено дозозалежне зростання рівня каталази. Так, у порівнянні з контролем каталазна активність зросла на 10 % за дози 5мг/кг та 17 % за максимально уведеної дози (рис. 3).

Аналіз результатів каталазної активності гомогенату печінки свідчить про виражене її дозозалежне зниження. Так, у порівнянні з контролем вона зменшилася на 26 % за дози 1 мг/кг та 36-37 % за доз 5 та 10 мг/кг (рис. 4).

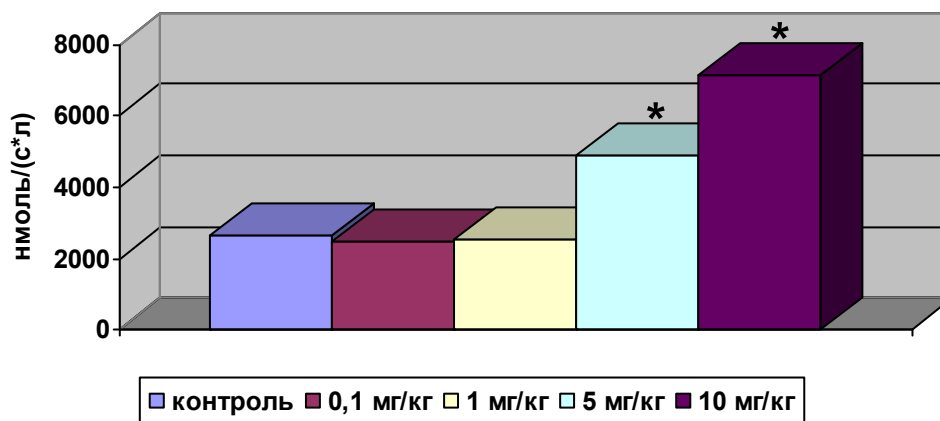


Рис. 7. Активність лужної фосфатази в крові щурів за умов підгострого впливу різних доз НЧС декаедричної форми

Примітка. * – $P < 0,05$ відносно контролю

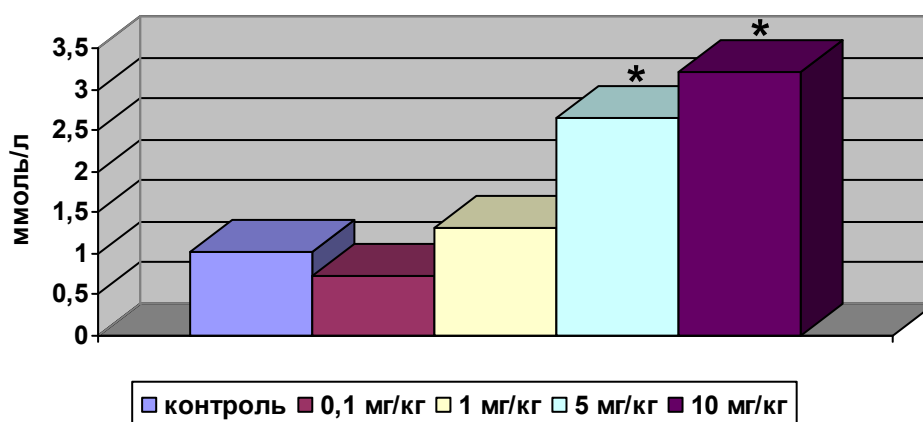


Рис. 8. Рівень холестеролу в крові щурів за умов підгострого впливу різних доз НЧС декаедричної форми

Примітка. * – $P < 0,05$ відносно контролю

Не менш вагомий фермент – ГП, яка каталізує реакцію розпаду пероксиду гідрогену чи гідропероксидів ненасичених вищих жирних кислот за допомогою відновленого глутатіону. Після уведення НЧС декаедричної форми спостерігали чіткі дозозалежні зміни активності ГП. Так, глутататіонпероксидазна активність крові достовірно знизилась на 27 % за дози НЧС 5 мг/кг та на 58 % за уведення максимальної дози 10 мг/кг (рис. 5).

Причому дослідження гомогенату печінки щурів вказує на зростання активності ГП за умов уведення різних доз розчину НЧС декаедричної форми. Глутататіонпероксидазна активність достовірно зросла на 22-23 % за дози НЧС 1 та 5 мг/кг та майже на 34 % за дози НЧС 10 мг/кг у порівнянні з контролем (рис. 6).

Крім цього, з огляду літератури відомо, що в результаті досліджень впливу НЧС сферичної форми виявлені дозозалежні пошкодження печінки, які проявлялися зростанням активності ЛФ та холестеролу [7-10]. Рівень активності ЛФ та холестеролу є одними з маркерів інтенсивності токсичного ураження печінки. Так, уведення срібних нанодаєдрів призводило до підвищення рівня активності ЛФ у сироватці крові піддослідних

щурів. Відмічено дозозалежне зростання активності ферменту із збільшенням дози НЧС. У порівнянні з контролем активність ЛФ була майже вдвічі більшою за дози 5 мг/кг і в 2,7 рази за дози 10 мг/кг (рис. 7).

Спостерігали також виражене дозозалежне зростання рівня холестеролу внаслідок підгострої дії НЧС. У крові тварин, яким вводили найвищі дози срібних нанодаєдрів, рівень холестеролу збільшився в 2,5 і в 3 рази відповідно зі збільшенням дози НЧС (рис. 8).

Дослідження показників загального білка та гемоглобіну в крові піддослідних щурів достовірних змін не виявило. Хоча відмічали чітку тенденцію до зменшення загального білка, особливо за двох максимальних доз та збільшення гемоглобіну.

Висновки

1. Внутрішньоочеревинне введення шурам наночастинок срібла декаедричної форми розміром 45 нм у дозах 5 та 10 мг/кг призводить до дозозалежного зростання малонового альдегіду та різнонаправлених змін активностей каталази та в крові й печінці тварин.

2. Виявлені зміни активності глутатіонпероксидази, каталази та рівня малонового альдегіду

свідчать про розбалансування адаптаційних механізмів організму, що може бути пов'язаним із наростанням оксидативного стресу.

3. Внутрішньоочеревинне уведення наночастинок срібла декаедричної форми розміром 45 нм різних доз призводить до вираженого дозозалежного зростання активності лужної фосфатази та холестеролу.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані щодо шкідливого ефекту НЧС на лабораторних щурів обґрунтовують необхідність проведення подальших наукових досліджень токсичної дії НЧС різної форми, а також пошуку шляхів нейтралізації їх негативного впливу на організм.

Література

1. Бойчук Т.М. До проблеми оцінки токсичності наночастинок срібла / Т.М. Бойчук, Н.Й. Андрійчук, Л.І. Власик // Клін. та експерим. патол. – 2012. – Т. XI, № 4 (42). – С. 151-158.
2. Іліка А.І. Фотостимульоване відновлення іонів Аргентуму з утворенням декаедричних наночастинок / А.І. Іліка, І.А. Чікірка, Ю.Б. Халавка // Наук. вісн. Чернів. ун-ту. – 2011. – Вип. 555.: Хімія. – С. 40-43.
3. Мещишен І.Ф. Метод визначення загальної антиоксидантної активності плазми (сироватки) крові / І.Ф. Мещишен, В.П. Пішак, В.П. Польовий // Бук. мед. вісник. – 2007. – Т. 11, № 3. – С. 165-167.
4. Перспективи впровадження нанотехнологій і наноматеріалів у харчовій промисловості, їх гігієнічна оцінка та актуальні завдання наногігієни харчування / М.Г. Проданчук, В.І. Слободкін, А.С. Подрушняк [та ін.] // Пробл. харчування. – 2010. – № 3-4. – С. 5-14.
5. Murshid N. Optimized Synthetic Protocols for Preparation of Versatile Plasmonic Platform Based on Silver Nanoparticles with Pentagonal Symmetries / N. Murshid, D. Keogh, V. Kitaev // Particle & Particle Systems Characterization. – 2014. – Vol. 31, № 2. – P. 178-189.
6. Pietrobon B. Photochemical synthesis of monodisperse size-controlled silver decahedral nanoparticles and their remarkable optical properties / B. Pietrobon, V. Kitaev // Chemistry of Materials. – 2008. – Vol. 20, № 16. – P. 5186-5190.
7. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles / J.H. Jung, J.H. Ji, J. D. Park [et al.] // Toxicological Science. – 2009. – Vol. 108 (2). – P. 452-461.
8. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles / Y.S. Kim, M.Y. Song, J.D. Park [et al.] // Particle and Fibre Toxicology. – 2010. – Vol. 7 (20). – P. 1-12.
9. Twenty-Eight-Day Inhalation Toxicity Study of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats / Jun Ho Ji, Jae Hee Jung, Sang Soo Kim [et al.] // Inhalation Toxicology. – 2007. – № 19. – P. 857-871.
10. Twenty-Eight-Day Oral Toxicity, Genotoxicity, and Gender-Related Tissue Distribution of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats / Y.S. Kim, J.S. Kim, H.S. Cho [et al.] // Inhalation Toxicology. – 2008. – Vol. 20. – P. 575-583.

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ДЕКАЭДРИЧЕСКОЙ ФОРМЫ НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У КРЫС

Н.Й. Андрійчук¹, Л.І. Власик^{1,2}

Резюме. Проведена оцінка змін біохімічних показників крові та печінки підопитних крыс, що виникли внаслідок підострого впливу наночастинок срібла (НЧС) декаедричної форми, отриманих методом фотостимульованого синтезу. В результаті внутрішньочеревинного введення крысам сріблястих наночастинок розміром 45 нм в дозах 5 і 10 мг/кг спостерігали дозозалежне збільшення МА і різнонаправлені зміни активностей КАТ і ГП в крові та печінці тварин. Обнаружені зміни активності ГП, КАТ і рівня МА свідчать про розбалансування адаптаційних механізмів організму, що може бути пов'язано з наростанням оксидативного стресу. Крім того, внутрішньочеревинне введення НЧС декаедричної форми розміром 45 нм різних доз привело до вираженого дозозалежного збільшення активності ЩФ та холестеролу.

Ключевые слова: наночастицы серебра, дозозависимость, антиоксидантная система.

EFFECT OF DECAHEDRON SILVER NANOPARTICLES ON THE STATE OF SYSTEM OF PRO- AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN RATS

N.J. Andriyчук¹, L.I. Vlasik^{1,2}

Abstract. There was carried out the assessment of biochemical changes of blood and liver tissue of experimental rats as a result of subacute effect of silver nanoparticles (SNP), which were received by photostimulated method. Following intraperitoneal injections of 45 nm decahedron-shape silver nanoparticles in dosages 5 and 10 mg/kg it was observed the dose-related increasing of malonic aldehyde and multidirectional changes of catalase and glutathione peroxidase activity of rat's blood and liver. We found changes of catalase and glutathione peroxidase activity and malonic aldehyde level testifying about the unbalance of adaptational organism's mechanisms. They may be connected with an increase of oxidative stress. Besides that, intraperitoneal injections of 45 nm decahedron-shape silver nanoparticles in different dosages led to a significant dose-related increasing of alkaline phosphatase and cholesterol.

Key words: silver nanoparticles, dose-dependence, antioxidant system.

Bukovinian State Medical University¹ (Chernivtsi)
L.I. Medved's Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety² (Chernivtsi)

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

Buk. Med. Herald. – 2015. – Vol. 19, № 1 (73). – P. 9-13

Надійшла до редакції 04.01.2015 року