

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРЕКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЛІПІДІВ ПЕЧІНКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ДІЇ НАНОЧАСТИНОК СВИНЦЮ

Алексійчук В.Д.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Ключові слова: наночастинки свинцю, ліпіди, печінка, щури, тіоцетам.

Вступ. В останні роки активного розвитку набули дослідження спрямовані на область нанотехнологій, що, в свою чергу, призвело до кардинальних змін у промисловості, інтенсифікації розробки засобів обробки інформації, синтезу нових матеріалів. Не оминули нанотехнології і медицину та фармакологію.

Стрімке впровадження нанотехнологій у повсякденне життя сучасної людини сприяло тому, що перед вченими різних спеціальностей постало завдання більш ґрунтовно вивчити як позитивні, так і негативні властивості наночастинок – продуктів нанотехнологій [1,2].

Надходження наночастинок в організм людини можливо інгаляційним, пероральним, перкутанним і парентеральними шляхами. Контакт людини з наноматеріалами може відбуватися на етапі їх розробки, виробництва, використання та переробки. У зв'язку з цим, велика увага приділяється розгляду питань безпеки наноматеріалів і нанотехнологій в медицині та біології.

В останні роки виготовлення і використання наноматеріалів в багатьох країнах набуло промислового характеру, що сприяє забрудненню наночастинками об'єктів навколишнього середовища [3,4,5].

Викликає занепокоєння зростання забруднення атмосферного повітря і робочих місць наночастинками, які можуть бути високотоксичними [4,5,6,7].

Серед факторів, забруднюючих навколишнє середовище, істотна роль належить важким металам, які характеризуються широким спектром патогенного впливу на організм людини. Відомо, що взаємодіючи з різними функціональними групами макромолекул (карбоксильними, фосфатними, сульфгідрильними), вони впливають на активність деяких ферментів і стан клітинних мембран. Особливого значення в нинішній час набуває проблема поєднаного впливу катіонів різних важких металів (свинцю, ртуті, кадмію). Не менш важлива сумісна дія важких металів з радіонуклідами, оскільки опромінені клітини більш чутливі до токсичного впливу важких металів. Постає проблема захисту населення від хронічних екологічних отруєнь [8].

Ще більше занепокоєння викликає ситуація, яка стосується наночастинок важких металів, серед яких свинець є одним з найнебезпечніших забруднювачів виробничого та навколишнього середовища.

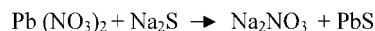
Таким чином цілком виправданим є інтерес до вивчення особливості дії наночастинок свинцю на організм тварин з метою попередження негативних впливів.

Мета роботи – вивчення ефективності корекції метаболічних порушень ліпідів печінки експериментальних щурів комбінованим лікарським препаратом тіоцетамом після дії наночастинок свинцю.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар вагою 160-180г. Утримувались тварини в умовах віварію на стандартизованому харчовому раціоні із вільним доступом до питної водогінної води.

Досліджувані препарати вводили внутрішньоочеревинно щоденно 5 разів на тиждень (моделювання робочого тижня) у концентраціях із розрахунку 1/100 ЛД₅₀ по свинцю для іонних форм (становить 0,94 мг Pb/кг).

Колоїдні розчини наночастинок сульфідів свинцю готували так, щоб вони містили аналогічну концентрацію катіону свинцю, як і розчини іонної форми (нітрат свинцю). В дистильовану воду додавали однакову кількість нітрату свинцю, з якого потім готували наночастинки свинцю у наступній реакції:



У якості стабілізатора наночастинок застосовували поліфосфат натрію.

Відповідно отримали: Pb з наночастинками 10 нм – колоїдний розчин PbS стабілізований поліфосфатом натрію, який готувався при $t = 4^\circ\text{C}$; Pb з наночастинками 30 нм – колоїдний розчин PbS стабілізований поліфосфатом натрію, який готувався при $t = 58^\circ\text{C}$, Pb(NO₃)₂ з частинками 400 нм – розчин нітрату свинцю у дистильованій воді. Таким чином, вводилась однакова кількість свинцю в усіх трьох розчинах.

Тварин було розподілено на 6 груп. Контролем слугували інтактні щури.

Тваринам першої, третьої та п'ятої груп протягом 12 тижнів вводили колоїдний розчин PbS з наночастинками 10 нм, 30 нм та Pb(NO₃)₂ з частинками 400 нм відповідно, з наступним післяекспозиційним періодом 6 тижнів без проведення профілактики.

Тваринам другої, четвертої та шостої груп протягом 12 тижнів вводили колоїдний розчин PbS з наночастинками 10 нм, 30 нм, та Pb(NO₃)₂ з частинками 400 нм відповідно, з додаванням тіоцетаму в післяекспозиційний період (6 тижнів).

Експеримент проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях. По закінченню періоду експозиції

тварин знеживлювали під легким ефірним наркозом шляхом декапітації. Матеріал для дослідження (печінка) забирали через 18 тижнів, з урахуванням післяекспозиційного періоду.

Порушення ліпідного метаболізму вивчали методом газорідинної хроматографії [9]. У спектрі ліпідів було ідентифіковано 10 найбільш інформативних жирних кислот (ЖК). Насичені жирні кислоти (НЖК) представлені: С14:0 міристиновою, С15:0 пентадекановою, С16:0 пальмітиновою, С17:0 маргариновою, С18:0 стеариною ЖК. Ненасичені жирні кислоти (ННЖК) представлені: С16:1 пальмітоолеїною, С18:1 олеїною, С18:2 лінолевою, С20:3 трієною, С20:4 арахідоною ЖК. Із них лінолева, трієнова та арахідонова є поліненасиченими жирними кислотами (ПНЖК). Показники вмісту ЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання піків хроматографом стандартних зразків. Кількісну оцінку ЖК печінки щурів проводили методом нормування площин піків метильованих похідних ЖК і визначали їх склад у відсотках. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням *t* – критерію Стьюдента.

Результати і обговорення. Як бачимо з результатів, приведених у таблиці 1, зміни жирнокислотного складу ліпідів печінки експериментальних щурів, яким вводили наночастинки PbS розміром 10 нм протягом 12 тижнів, без додавання тіоцетаму у постекспозиційний період (1 група) відбуваються наступним чином: вміст олеїнової ЖК достовірно зменшується з $8,0 \pm 0,7$ до $5,6 \pm 0,6$ ($p < 0,05$). Є тенденція до зниження рівня такої ЖК як пальмітинова з $18,7 \pm 1,0$ до $17,0 \pm 1,0$ ($p > 0,05$), а також зростання вмісту стеаринової ЖК з $9,8 \pm 1,0$ до $11,8 \pm 1,0$ ($p > 0,05$) та арахідонової ЖК з $50,5 \pm 1,5$ до $53,0 \pm 1,5$ ($p > 0,05$), що впливає на зростання рівня ПНЖК з $61,5 \pm 1,8$ до $63,9 \pm 1,6$ ($p > 0,05$). Таким чином, для нормалізації жирнокислотного складу ліпідів печінки тварин необхідне проведення превентивних заходів. З цією метою використовували тіоцетам – комбінований препарат, що складається з 50 мг тіатриазоліну і 200 мг пірацетаму, проявляє широкий спектр антиоксидантних, мембраностимулюючих, протиземічних, церебротропних і ноотропних ефектів.

Як бачимо з результатів, приведених у таблиці 1, зміни жирнокислотного складу ліпідів печінки експерименталь-

них щурів, яким вводили наночастинки PbS розміром 10 нм протягом 12 тижнів, із проведенням превентивних заходів з додаванням тіоцетаму у постекспозиційний період (2 група) відбуваються наступним чином: всі показники ліпідного комплексу достовірно не відрізняються від показників контролю. Отримані результати дозволяють зробити висновок, що додавання тіоцетаму сприяє нормалізації жирнокислотної формули ліпідів печінки експериментальних щурів.

Як бачимо з результатів, приведених у таблиці 2, зміни жирнокислотного складу ліпідів печінки експериментальних щурів, яким вводили наночастинки PbS розміром 30 нм протягом 12 тижнів, без профілактики у постекспозиційний період (3 група) відбуваються наступним чином: достовірно знижується вміст олеїнової ЖК з $8,0 \pm 0,7$ до $5,4 \pm 0,6$ ($p < 0,05$). Є тенденція до збільшення вмісту стеаринової ЖК з $9,8 \pm 1,0$ до $11,6 \pm 1,0$ ($p > 0,05$), арахідонової ЖК з $50,5 \pm 1,5$ до $53,2 \pm 1,5$ ($p > 0,05$) та зниження вмісту лінолевої ЖК з $10,3 \pm 1,0$ до $9,5 \pm 0,9$ ($p > 0,05$), що обумовлює збільшення вмісту ПНЖК з $61,5 \pm 1,8$ до $63,2 \pm 1,5$ ($p > 0,05$).

Як бачимо з результатів, приведених у таблиці 2, зміни жирнокислотного складу ліпідів печінки експериментальних щурів, яким вводили наночастинки PbS розміром 30 нм протягом 12 тижнів, із додаванням тіоцетаму у постекспозиційний період (4 група) здійснюється наступним чином: вміст олеїнової ЖК зменшується з $8,0 \pm 0,7$ до $6,0 \pm 0,6$ ($p > 0,05$), що може свідчити про позитивний ефект, спричинений додаванням тіоцетаму у постекспозиційний період. Таким чином, профілактика сприяє нормалізації жирнокислотної формули ліпідів печінки експериментальних щурів.

Як бачимо з результатів, приведених у таблиці 3, зміни жирнокислотного складу ліпідів печінки експериментальних щурів, яким вводили частинки Pb(NO₃)₂ розміром 400 нм протягом 12 тижнів, без профілактики у постекспозиційний період (5 група) відбуваються наступним чином: вміст пальмітинової ЖК достовірно зростає з $18,7 \pm 1,0$ до $21,2 \pm 1,3$ ($p < 0,05$), вміст арахідонової ЖК достовірно знижується з $50,5 \pm 1,5$ до $46,4 \pm 1,5$ ($p < 0,05$), що обумовлює зниження суми ПНЖК з $61,5 \pm 1,8$ до $58,7 \pm 1,6$ ($p < 0,05$). Є тенденція до зростання вмісту стеаринової ЖК з $9,8 \pm 1,0$

Таблиця 1

Жирнокислотний склад ліпідів печінки експериментальних щурів у %

Жирні кислоти	1 група	2 група	Контроль
С _{14:0} міристинова	$0,6 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$
С _{15:0} пентадеканова	$0,2 \pm 0,05$	$0,2 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,05$
С _{16:0} пальмітинова	$17,0 \pm 1,0$	$18,3 \pm 1,5$	$18,7 \pm 1,0$
С _{16:1} пальмітоолеїнова	$0,7 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$
С _{17:0} маргаринова	$0,2 \pm 0,05$	$0,2 \pm 0,03$	$0,2 \pm 0,05$
С _{18:0} стеаринова	$11,8 \pm 1,0$	$9,3 \pm 0,9$	$9,8 \pm 1,0$
С _{18:1} олеїнова	$5,6 \pm 0,6^*$	$9,5 \pm 1,0$	$8,0 \pm 0,7$
С _{18:2} лінолева	$10,2 \pm 1,0$	$13,3 \pm 1,0$	$10,3 \pm 1,0$
С _{20:3} трієнова	$0,7 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,1$
С _{20:4} арахідонова	$53,0 \pm 1,5$	$47,4 \pm 1,5$	$50,5 \pm 1,5$
Σ НЖК (сума насичених ЖК)	$29,8 \pm 1,8$	$28,5 \pm 2,0$	$29,3 \pm 2,0$
Σ ННЖК (сума ненасичених ЖК)	$70,2 \pm 1,8$	$71,5 \pm 2,0$	$70,7 \pm 2,0$
Σ ПНЖК (сума поліненасичених ЖК)	$63,9 \pm 1,6$	$61,2 \pm 1,8$	$61,5 \pm 1,8$

Примітка: * $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

Жиринокислотний склад ліпідів печінки експериментальних щурів у %

Жирині кислоти	3 група	4 група	Контроль
C _{14:0} міристинова	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,1
C _{15:0} пентодеканова	0,2 ± 0,05	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,05
C _{16:0} пальмітинова	17,8 ± 1,0	22,8 ± 1,6	18,7 ± 1,0
C _{16:1} пальмітоолеїнова	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1
C _{17:0} маргарінова	0,2 ± 0,05	0,3 ± 0,05	0,2 ± 0,05
C _{18:0} стеаринова	11,6 ± 1,0	11,3 ± 1,0	9,8 ± 1,0
C _{18:1} олеїнова	5,4 ± 0,6*	6,0 ± 0,6	8,0 ± 0,7
C _{18:2} лінолева	9,5 ± 0,9	8,8 ± 0,9	10,3 ± 1,0
C _{20:3} тріснова	0,5 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,6 ± 0,1
C _{20:4} арахідонова	53,2 ± 1,5	47,9 ± 1,3	50,5 ± 1,5
Σ НЖК (сума насичених ЖК)	30,5 ± 1,6	35,4 ± 1,8	29,3 ± 2,0
Σ ННЖК (сума ненасичених ЖК)	69,5 ± 1,6	64,6 ± 1,8	70,7 ± 2,0
Σ ПНЖК (сума поліненасичених ЖК)	63,2 ± 1,5	57,7 ± 1,6	61,5 ± 1,8

Примітка: * p < 0,05 у порівнянні з контролем

Таблиця 2

Жиринокислотний склад ліпідів печінки експериментальних щурів у %

Жирині кислоти	5 група	6 група	Контроль
C _{14:0} міристинова	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1
C _{15:0} пентодеканова	0,2 ± 0,05	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,05
C _{16:0} пальмітинова	21,2 ± 1,3*	20,7 ± 1,8	18,7 ± 1,0
C _{16:1} пальмітоолеїнова	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1
C _{17:0} маргарінова	0,2 ± 0,05	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,05
C _{18:0} стеаринова	11,2 ± 1,0	10,7 ± 1,0	9,8 ± 1,0
C _{18:1} олеїнова	6,7 ± 0,7	6,9 ± 0,7	8,0 ± 0,7
C _{18:2} лінолева	11,4 ± 1,0	9,5 ± 1,0	10,3 ± 1,0
C _{20:3} тріснова	0,9 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1
C _{20:4} арахідонова	46,4 ± 1,5*	49,5 ± 1,6	50,5 ± 1,5
Σ НЖК (сума насичених ЖК)	33,6 ± 1,8	32,8 ± 1,6	29,3 ± 2,0
Σ ННЖК (сума ненасичених ЖК)	66,4 ± 1,8	67,2 ± 1,6	70,7 ± 2,0
Σ ПНЖК (сума поліненасичених ЖК)	58,7 ± 1,6*	59,4 ± 1,5	61,5 ± 1,8

Примітка: * p < 0,05 у порівнянні з контролем

до 11,2 ± 1,0 (p > 0,05), що обумовлює вплив на рівень ПНЖК. Для нормалізації жиринокислотного складу ліпідів печінки тварин в якості превентивних заходів додавали тіоцетам (6 група).

Як бачимо з таблиці 3, показники жиринокислотного складу ліпідів печінки експериментальних щурів, яким вводили частинки Pb(NO₃)₂ розміром 400 нм протягом 12 тижнів, із додаванням тіоцетаму у постекспозиційний період (6 група), достовірно не відрізняються від контролю, що свідчить про ефективність превентивних заходів направлених на нормалізацію жиринокислотної формули ліпідів печінки експериментальних щурів.

Висновки.

1. Встановлено, що у щурів, яким вводили розчин PbS з наночастинками розміром 10, 30 нм та розчин Pb(NO₃)₂ з розмірами частинок 400 нм протягом 12 тижнів і яким у постекспозиційний період превентивні заходи не проводились, відбуваються достовірні зміни показників жиринокислотного складу ліпідів печінки, а саме: зменшення вмісту олеїнової ЖК з 8,0 ± 0,7 до 5,6 ± 0,6 (p < 0,05) при дії наночастинок свинцю розміром 10 нм, зменшення вмісту олеїнової ЖК з 8,0 ± 0,7 до 5,4 ± 0,6 (p < 0,05) при дії наночастинок свинцю розміром 30 нм, а також зменшення

вмісту арахідонової ЖК з 50,5 ± 1,5 до 46,4 ± 1,5 (p < 0,05) та зростання вмісту пальмітинової ЖК з 18,7 ± 1,0 до 21,2 ± 1,3 (p < 0,05) при дії частинок свинцю розміром 400 нм.

2. Виявлено, що у щурів, яким вводили частинки свинцю розміром 10, 30 та 400 нм протягом 12 тижнів і яким у постекспозиційний період проводились превентивні заходи у вигляді додавання тіоцетаму, показники жиринокислотного складу печінки достовірно не відрізняються від контролю. Це свідчить про те, що превентивні заходи з додаванням тіоцетаму сприяють нормалізації жиринокислотної формули ліпідів печінки експериментальних щурів.

3. У зв'язку з однаправленістю змін показників жиринокислотного складу печінки експериментальних щурів при дії різних форм свинцю, потрібно продовжити дослідження з метою поглибленого визначення відмінностей їх дії.

Рецензент: д.мед.н., професор Омельчук С.Т.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кобаси Н. Введение в нанотехнологию. – Перевод с японского. – М: Бином. Лаборатория знаний, 2007. – 416 с

2. Фостер Л. Нанотехнологии. Наука, инновации и возможности / Л. Фостер; [пер. с англ.] – М.: Техносфера, 2008. – 350 с.

3. Denison R.A. Environmental and safety impacts on nanotechnology: what research is needed? [on line]. Available from URL: www.environmentaldefense.org/documents/5136_Denison_House_testimony_On_Nan_o.pdf [Assessed 2006 April 4].

4. Oberdorster G. Toxicology of airborne environment and occupational particles [on line]. Available from URL: <http://www2.envmed.Rochester.Edu/envmed/tox/faculty/oberdorster.htm> [assessed 2006 Jan 25].

5. Elder A.C.P. Pulmonary inflammatory response to inhaled ultrafine particles is modified by age, ozone exposure, and bacterial toxin / A.C.P Elder, R. Gelein, J.N. Finkelstein [et al.] // *Inhal Toxicol.* – 2000. – 12 (suppl 4). – P. 227 – 246.

6. Dockery D.W. An Association between Air Pollution and Mortality in 6 United States Cities / D.W. Dockery, X.P. Xu, J.D. Spengler // *New England J. of Medicine.* – 1993. – 329. – P.1753 – 1759.

7. Oberdorster G. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles / G.Oberdorster, E. Oberdorster, J Oberdorster // *Environmental Health Perspectives.* – 2005. – 7 (13). – P.823 – 839.

8. Юрженко Н.М. Ліпопероксидація при свинцево-струнцієвій інтоксикації та корекції фламлікармом. // *Фізіологічний журнал.* – 1998. – №1-2. – С. 64-69.

9. Гарник Т.П, Білоусова І.В. Жирнокислотний склад ліпідів печінки щурів при експериментальній інсуліно-резистентності // *Сучасна гастроентерологія.* – 2007. – №2. – С. 35-38

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СВИНЦА

Алексійчук В.Д.

Национальный медицинский университет
имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Резюме. В эксперименте на крысах изучено влияние наночастиц свинца размером 10, 30 и 400 нм на жирнокислотный состав липидов печени. Установлено, что у крыс, которым вводили раствор PbS с наночастицами размером 10, 30 нм и раствор Pb(NO₃)₂ с размерами частиц 400 нм в течение 12 недель, и которым, в постэкспозиционный период, превентивные меры не проводились, происходят достоверные изменения показателей жирнокислотного состава липидов печени, а именно: уменьшение содержания олеиновой ЖК с 8,0 ± 0,7 до 5,6 ± 0,6 (p < 0,05) при воздействии наночастиц свинца размером 10 нм, уменьшение содержания олеиновой ЖК с 8,0 ± 0,7 до 5,4 ± 0,6 (p < 0,05) при воздействии наночастиц свинца размером 30 нм, а также уменьшение содержания арахидоновой ЖК с 50,5 ± 1,5 до 46,4 ± 1,5 (p < 0,05) и повышение содержания пальмитиновой ЖК с 18,7 ± 1,0 до 21,2 ± 1,3 (p < 0,05) при воздействии частиц свинца размером 400 нм. Обнаружено, что при действии частиц свинца размером 10, 30 и 400 нм в течении 12 недель на крыс которым в постэкспозиционный период проводились превентивные меры, в виде добавления тиоцетама, показатели жирнокислотного состава печени достоверно не отличаются от контроля. Это свидетельствует о том, что превентивные меры с добавлением тиоцетама способствуют нормализации жирнокислотной формулы липидов печени экспериментальных крыс.

Ключевые слова: наночастицы свинца, липиды, печень, крысы, тиоцетам.

STUDY OF EXPERIMENTAL RATS' LIVER LIPID METABOLIC DISTURBANCES CORRECTION EFFICIENCY AFTER EXPOSURE TO LEAD NANOPARTICLES

Aleksijchuk V.D.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Summary. The effects of lead nanoparticles of 10, 30 and 400 nm on fatty acid composition of liver lipids were studied in experiments on rats. It was found that rats treated with a solution of PbS nanoparticles of 10 and 30nm and dissolved Pb (NO₃)₂ with a particle size of 400 nm for 12 weeks, and that, in the period after the exposure, and preventive measures are not carried out, significant changes in the fatty acid ratios of hepatic lipid composition occurred, notably: decrease in oleic FA with 8,0 ± 0,7 to 5,6 ± 0,6 (p < 0.05) when exposed to lead nanoparticles of 10 nm, a decrease in oleic FA with 8,0 ± 0,7 to 5,4 ± 0,6 (p < 0.05) when exposed to lead nanoparticles of 30 nm, and decrease in arachidonic FA with up to 50,5 ± 1,5 to 46,4 ± 1,5 (p < 0.05) and increase in the content of palmitic FA with up to 18,7 ± 1,0 to 21,2 ± 1,3 (p < 0.05) under the influence of the particle size of the lead of 400 nm. It was determined that rats under the action of lead particles of 10, 30 and 400 nm size for 12 weeks and having preventive measures in the form of thiocetam supplement have not significantly different changes in the rates of liver fatty acids composition comparing to control rats. This suggests that preventive measures with thiocetam supplement promote normalization of liver lipid fatty acid formula of experimental rats.

Key words: lead nanoparticles, lipids, liver, rats, thiocetam.