

## ОСОБЛИВОСТІ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ НАНОЧАСТИНОК Fe ТА Cu НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕННЯ ЇХ В ОЧЕРЕВИНУ

Дмитруха Н.М., Короленко Т.К., Лагутіна О.С., Андрусішина І.М., Легкоступ Л.А.

*Державна Установа «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва Національної академії медичних наук України», м. Київ, Україна*

*Анотація. У статті представлені результати дослідження токсичної дії наночастинок (НЧ) Fe 40 нм та Cu 20 нм на організм щурів за умови ізольованого однократного їх введення в очеревину. Дослідження проведені через 24 і 48 годин після введення НЧ металів. У контрольних і дослідних щурів визначали концентрацію заліза і міді в крові та внутрішніх органах; біохімічні показники, що характеризують стан печінки і нирок; фагоцитарну активність перитонеальних макрофагів та вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові. Встановлено, що однократне введення НЧ Fe в очеревину щурів призвело до збільшення вмісту заліза в крові, печінці та нирках, а НЧ Cu збільшення вмісту міді в печінці, нирках та тимусі. Короткострокова експозиція НЧ Fe і НЧ Cu викликала підвищення активності трансаміназ, вмісту сечової кислоти, холестерину та тригліцеридів в сироватці крові дослідних щурів, що є ознаками ушкодження клітин печінки та нирок. Введення НЧ металів в очеревину стимулювало утворення активних форм кисню в клітинах перитонеального ексудату - макрофагах та збільшення рівня низько- і високомолекулярних ЦІК в крові, що вказує на імуностимулюючу активність наночастинок Fe і Cu.*

**Ключові слова:** наночастинок Fe і Cu, токсичність, цитотоксичність

**Вступ.** Метали залізо і мідь відносяться до життєво важливих мікроелементів, які забезпечують нормальне протікання багатьох фізіологічних процесів в організмі. Вони надходять з продуктами харчування, питною водою, а також з вітамінними препаратами та біологічно активними добавками. Сучасний розвиток нанотехнологій відкриває широкі перспективи для виробництва мікроелементів у формі наночастинок (НЧ), які активно використовуються в фармакологічних препаратах, дезінфекційних та косметичних засобах, сільському господарстві, ветеринарії, медицині, харчовій промисловості й ін., що сприяє їх потраплянню в організм людини [1-3].

Особливі фізико-хімічні властивості наночастинок (малий розмір, підвищена біодоступність і кумулятивна здатність, висока каталітична та біологічна реактивність) відрізняють НЧ металів від їх іонів чи мікрочастинок. Це може мати як позитивний ефект, так і створювати певні ризики для здоров'я людини, що потребує проведення токсикологічних досліджень з оцінки їх безпечності [4-6].

На сьогодні в літературі є відомості про те, що НЧ металів здатні проходити крізь захисні бар'єри: шлунковий, плацентарний, гемато-енцефалічний, розповсюджуватися по ходу відростків нервових клітин, кровоносних і лімфатичних судин. Органами-мішенями токсичної дії НЧ металів, що циркулюють у повітрі, в першу чергу, є легені з ризиком розвитку патологій бронхо-легеневої системи (астма, хронічний обструктивний бронхіт, емфізема, рак легень). З боку серцево-судинної системи вони можуть викликати атеросклероз, тромбоз, гіпертонію, аритмію та захворювання серця. НЧ металів, що надходять до шлунково-кишкового тракту можуть спричиняти цироз печінки, хворобу Крона та колатеральний рак. Накопичення НЧ металів у нирках може бути причиною розвитку гломерулонефриту [6,7]. Встановлено, що при потраплянні в організм одним з перерахованих шляхів, окремо чи у комплексі, НЧ металів можуть посилювати або пригнічувати імунну відповідь, спричиняти розвиток алергійних та аутоімунних захворювань, таких як дерматити, васкуліти [8].

Досліджено, що гостре пероральне введення мишам суспензії НЧ заліза в дозі 50, 100 і 500 (мкг/кг) не викликало будь-яких токсичних ефектів. Тільки дробове введення доз 1000, 2000 і 5000 (мкг/кг) призводило до розвитку запального процесу на слизовій шлунка і кишковика, а також порушення гемопоезу. На основі отриманих результатів механізм токсичної дії НЧ заліза автори пов'язують зі стимуляцією оксидативного стресу, порушенням функції мітохондрій і збільшенням проникності мембран клітин [9].

Встановлено, що інтраперитоніальне введення НЧ заліза протягом 3 діб супроводжувалось в селезінці клітинною реакцією макрофагальної системи з фагоцитозом заліза при мінімальних фібропластичних процесах, які поєднувались з посиленням кровообігу у вигляді повнокрів'я та набряку, активізацією Т-зон (збільшення площі лімфоїдних фолікулів з інтенсивним накопиченням клітин лімфоїдного ряду в періартеріолярній області фолікула). Введення НЧ заліза протягом 10 діб призводило до підвищеного фагоцитозу заліза макрофагами селезінки; наростанню фібропластичних процесів навколо відкладень залізовмісного пігменту; стимуляцією В-зон (періартеріолярних і маргінальних областей фолікулів з формуванням вторинних центрів розмноження) [10].

Іншими авторами досліджено [11], що однократне введення НЧ оксиду заліза ( $Fe_3O_4$ ) у концентрації 100 мг/мл стимулювало дихальну функцію клітин крові, змінювало геометричний профіль еритроцитів, індукувало конформаційну перебудову гемоглобіну. Дослідження гострої токсичності на щурах показало, що НЧ оксиду заліза проявляли токсичну дію в дозах, що перевищують 400 мг/кг. При вивченні хронічної токсичності цього препарату виявлено збільшення активності ферментів АЛТ і АСТ в крові, асоційованих з цитоморфологічними змінами в печінці. Препарат не володів генотоксичністю, проте були встановлені тератогенний та ембріотоксичний ефекти.

Стосовно НЧ міді досліджено, що їх підшкірне однократне введення безпородним мишам у вигляді суспензії з діаметром частинок 50-60 нм у фізіологічному розчині у дозі 0,05 мг/кг на протязі 3-х днів чинило пошкоджувальний ефект на клітини серцевого м'яза, про що свідчило збільшення активності ферментів АСТ та креатинфосфокінази (КФК) [12]. Порівняльне вивчення токсичності НЧ міді 23,5 нм, мікрочастинок розміром 17 мікрон та іонів ( $\text{CuCl}_2$ ) при пероральному введенні мишам дозволило розрахувати параметри гострої токсичності ( $\text{DL}_{50}$ ), які становили відповідно: 413, 5000 і 110 (мг/кг). Органами-мішенями токсичного впливу НЧ міді виявилися печінка, селезінка, нирки [13].

Слід відзначити, що представлені в літературі дані дослідження, не в повній мірі розкривають механізми та особливості токсичної дії заліза та міді у формі НЧ. Тому виникає потреба оцінки їх безпечності для людини і тварин як за умови короткочасної, так і тривалої дії

**Метою досліджень** – була оцінка особливостей акумуляції НЧ заліза і міді в організмі та токсичного впливу після однократного ізольованого внутрішньоочеревинного введення щурам Вістар.

**Матеріали і методи дослідження.** Наночастинки заліза (НЧ Fe) були отримані хімічним синтезом в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України у вигляді водної дисперсії з концентрацією заліза 10 мг/мл, мали сферичну форму і розмір 40 нм. Для їх синтезу були використані реагенти: заліза(III) хлорид ( $\text{FeCl}_3$ ), (anhydrous, powder,  $\geq 99.99\%$  trace metals basis, Aldrich), натрію борогідрид (~98%, Sigma), декстран ( $M_r$  30 000;  $M_r$  40 000; Sigma), натрію хлорид (BioXtra,  $\geq 99.5\%$ , Sigma- Aldrich), аскорбінова кислота.

Наночастинки міді (НЧ Cu) також були синтезовані в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України у вигляді водної дисперсії з концентрацією міді 8 мг/мл, мали сферичну форму і розмір 20 нм. Для їх синтезу були використані: сульфат міді ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), натрію борогідрид (~98%, Sigma), декстран ( $M_r$  30 000;  $M_r$  40 000; Sigma), натрію хлорид (BioXtra,  $\geq 99.5\%$ , Sigma- Aldrich).

Експеримент виконано на статевозрілих щурах самцях лінії Вістар масою 180-220 г, які були розподілені на 3 групи (по 8 тварин у кожній). 1-й дослідній групі однократно в очеревину вводили колоїдний розчин НЧ Fe (концентрація заліза 1,0 мг/кг), 2-й групі – розчин НЧ Cu (концентрація міді 0,8 мг/кг маси тіла щура). Контрольній групі вводили фізіологічний розчин. Дослідження проводили через 24 і 48 години після введення НЧ металів. Кров та внутрішні органи у щурів забирали після декапітації під легким ефірним наркозом. Досліди на тваринах проводили згідно вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях [14], яка схвалена Комітетом з біоетики НАН України.

У контрольних і дослідних щурів визначали концентрацію заліза і міді в крові та органах (печінка, нирки, селезінка, тимус) методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою на приладі Optima 2100 DV (Perkin Elmer, США) згідно методичних рекомендацій [15]. В усіх групах щурів визначали біохімічні показники, що характеризують функціональний стан печінки і нирок: активність ферментів АЛТ і АСТ, концентрацію сечової кислоти, сечовини, креатиніну, глюкози, холестерину і тригліцеридів. Дослідження проводили у свіжій сироватці крові без слідів гемолізу за допомогою біохімічного аналізатора "KeyLab" (Італія) з використанням стандартних тест-наборів DiaSys Diagnostic Systems (Німеччина) [16]. Визначали також кисень активуючу (бактерицидну) активність перитонеальних макрофагів в НСТ-тесті [17] та уміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові методом преципітації з поліетиленгліколем  $M=6000$  [18]. Статистичний аналіз отриманих даних здійснювали з використанням програми Microsoft Excel 2007, розраховували середнє арифметичне, середнє відхилення, похибку середнього арифметичного. Достовірність відмінності показників оцінювали за критеріями t-Стюдента та U-Манна-Уїтні.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати визначення вмісту заліза і міді в біосубстратах щурів (цільна кров, печінка, нирки, селезінка, тимус) через 24 і 48 годин після однократного введення водних дисперсій НЧ Fe і НЧ Cu представлено в таблиці 1. Встановлено, що однократне введення в очеревику НЧ Fe спричинило підвищення концентрації заліза в крові, печінці та нирках дослідних щурів через 24 години (на 21,2%, 13,9% і 41,5%) та через 48 годин (на 33,9%, 74,4% і 32,0%), ( $p < 0,05$  у порівнянні з показниками у контрольних тварин). Однократне введення НЧ Cu через 24 години призвело до підвищення вмісту міді в крові (на 32,9%), значного збільшення в тимусі, печінці і нирках (в 5,2; 5,0 і 3,2 рази відповідно) ( $p < 0,05$  порівняно з контрольними показниками). Через 48 годин після введення НЧ Cu концентрація міді в крові дещо збільшилась (на 38,6%) і суттєво зросла в тимусі (5,4 разу), печінці (13,0 разів), нирках (3,4 разу) ( $p < 0,05$  у порівнянні з контрольними показниками) (табл.1).

Визначені підвищені концентрації заліза і міді у біосубстратах дослідних щурів дозволяють припустити, що НЧ Fe і НЧ Cu при введенні в очеревику протягом доби поступають у кров, розподіляються кровотоком до органів та накопичуються в тканинах і клітинах органів, що свідчить про їх високу кумулятивну здатність. Слід відзначити, що НЧ Cu 20 нм, які були меншого розміру, ніж НЧ Fe 40 нм, більш швидко розносились кровотоком та накопичувались в органах (печінка, тимус, нирки) дослідних тварин. Збільшення вмісту обох металів у нирках свідчить про їх виведення з організму.

**Концентрація заліза та міді в крові та внутрішніх органах щурів через 24 і 48 годин після однократного введення в очеревину НЧ Fe і НЧ Cu, M±m**

Група тварин	Кров, мг/л	Тимус, мкг/г	Селезінка, мкг/г	Печінка, мкг/г	Нирки, мкг/г
Після однократного введення НЧ Fe					
Контрольна	257,94±81,48	49,31±0,14	225,90±14,77	122,31±6,04	67,47±1,10
24 години	312,61±25,76*	44,99±0,24	239,16±21,76	139,41±0,04*	95,50±5,29*
48 годин	345,52±16,50*	48,09±0,24	235,60±26,13	213,33±0,04*	89,08±4,16*
Після однократного введення НЧ Cu					
Контрольна	0,88±0,16	1,16±0,14	1,92±0,19	7,63±1,93	7,36±0,39
24 години	1,17±0,21	6,07±0,24*	2,21±0,68	38,08±0,04*	23,59±4,34*
48 годин	1,22±0,34	6,31±0,24*	1,81±0,58	100,04±0,04*	28,70±1,72*

Примітка. У цій та наступних таблицях \* - позначена достовірна відмінність показників у дослідних групах щурів у порівнянні з такими в контрольній групі,  $p < 0,05$ ; + - позначена тенденція до змін,  $p < 0,1$ .

Виконані біохімічні дослідження після однократного введення НЧ металів в очеревину щурів дозволили встановити ознаки порушення функції печінки та нирок. Так, у щурів через 24 години після введення НЧ Fe активність трансаміназ АЛТ і АСТ у сироватці крові була в межах контрольних значень. Збільшення вмісту заліза в печінці через 48 годин спричинило достовірне підвищення активності ферменту АЛТ (у 1,6 разу) та АСТ (у 2,2 разу),  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками в контрольній групі). Введення щурам НЧ Cu призвело до зниження активності ферменту АЛТ через 24 години (на 35,0%), тоді як активність АСТ не відрізнялась від контрольних значень. Через 48 годин після введення НЧ Cu у сироватці крові дослідних щурів порівняно з контрольними визначено достовірне збільшення активності АСТ (у 4,0 рази). Отримані результати можуть вказувати на цитоліз клітин печінки і серця в наслідок накопичення в них НЧ Fe і НЧ Cu.

Після введення НЧ обох металів визначено збільшення вмісту загального білку в сироватці дослідних щурів порівняно з контрольними через 24 години (на 42,2% і 46,0% відповідно), тоді як через 48 годин концентрація білку в крові в дослідних щурів зросла у 2,1 разу ( $p < 0,05$ ) (табл.2).

За клінічними даними рівень білка є одним з важливих діагностичних показників при цілому ряді захворювань, особливо пов'язаних з вираженими порушеннями метаболізму. Оскільки синтез білків плазми крові здійснюється в основному в клітинах печінки і ретикуло-ендотеліальної системи, можна припустити, що підвищення вмісту загального білка в сироватці крові дослідних щурів пов'язано з порушення білоксинтезуючої функції печінки, а також активацією захисних механізмів, зокрема синтезом антитіл (імуноглобулінів).

**Зміни окремих біохімічних показників сироватки крові щурів через 24 і 48 годин після однократного введення в очередину НЧ Fe і НЧ Cu, M±m**

Показники	Групи тварин		
	Контрольна	НЧ Fe	НЧ Cu
Через 24 години після введення			
АЛТ, ОД/л	40,75±2,39	44,67±8,48	26,50±2,47
АСТ, ОД/л	135,53±30,80	131,62±20,84	140,18±24,20
Загальний білок, г/л	73,92±7,03	105,14±9,66*	107,86±5,13*
Сечова кислота, мкмоль/л	430,00±10,10	432,30±11,00	415,50±7,00
Креатинін, мкмоль/л	30,30±0,72	29,51±0,70	30,50±0,55
Холестерин, ммоль/л	37,50±3,16	47,33±3,19+	39,33±5,66
Тригліцериди, ммоль/л	34,50±4,19	45,67±3,72*	36,67±2,30
Через 48 годин після введення			
АЛТ, ОД/л	39,00±4,46	61,67±11,14*	54,17±13,08
АСТ, ОД/л	63,30±14,62	138,32±40,30*	251,53±41,20*
Загальний білок, г/л	53,48±9,25	110,33±16,24*	114,89±18,87*
Сечова кислота, мкмоль/л	420,20±5,50	468,00±18,10*	490,50±28,60*
Креатинін, мкмоль/л	30,55±0,20	32,30±0,55	32,00±0,35
Холестерин, ммоль/л	32,00±4,46	49,33±8,48*	51,50±9,72*
Тригліцериди, ммоль/л	35,00±6,19	57,50±9,90*	65,67±3,26*

Під час експерименту було встановлено, що концентрація сечової кислоти в сироватці крові дослідних щурів через 24 години після введення НЧ обох металів була в межах контрольних значень, а через 48 годин дещо підвищилася (на 11,4% і 16,6%) у порівнянні з контролем. Сечова кислота є кінцевим продуктом обміну білків та виділяється нирками, її підвищення може вказувати на порушення процесу утворення або видалення.

Визначено, що вміст креатиніну в сироватці крові дослідних щурів через 24 і 48 годин після введення розчинів НЧ обох металів не відрізнявся від значення в контрольній групі (табл.2). Оскільки концентрація креатиніну вважається маркером функції нирок, можемо говорити про незначний вплив НЧ Fe і НЧ Cu на їхню видільну функцію.

Зміни концентрації холестерину в сироватці крові дослідних щурів через 24 години після введення НЧ металів порівняно з контрольною групою були не суттєвими. Проте, через 48 годин після введення НЧ Fe і НЧ Cu виявлено підвищені рівні вмісту холестерину (на 54,2% і 60,9%) та тригліцеридів (на 64,3% і 87,6%),  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками в контрольній групі тварин. За даними літератури збільшення вмісту холестерину і тригліцеридів в сироватці крові може бути свідченням порушення функції печінки, яка відіграє провідну роль у ліпідному обміні.

На сьогодні встановлено, що механізм розвитку токсичної дії НЧ металів пов'язаний з окислювальним стресом, порушенням функцій мітохондрій і збільшенням проникності

мембрани, апоптозом та некрозом клітин. У процесі формування захисних реакцій організму, спеціалізовані клітини - гранулоцити і моноцити при контакті з чужорідними агентами змінюють свій окислювальний метаболізм, посилюючи споживання кисню з утворенням його активних форм  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^{\cdot}$ ,  $O_2^{\cdot-}$  через активацію НАДФН - оксидази ключового ферменту респіраторного вибуху. Функція активних форм кисню подвійна, по-перше, вони ініціюють вільнорадикальне перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) і по-друге, справляють мікробіцидну дію, завдяки чому беруть участь у формуванні вільнорадикального статусу і антимікробного захисту організму. Обидва ці явища - генерація активних форм кисню і його підвищене споживання становлять сутність респіраторного вибуху, який підсилює також функціонування біохімічних процесів, пов'язаних з окисленням ліпідів і глюкози шляхом аеробного та анаеробного гліколізу [17].

Досліджено, що однократне введення НЧ Fe і НЧ Cu в очеревину дослідним щурам вже через 24 години викликало активацію респіраторного вибуху в перитонеальних макрофагах (збільшення показника НСТ-тесту спонтанного на 18,6% і 33,3% відповідно), при цьому їх резервні можливості не змінювались (значення НСТ-стимульованого були в межах контролю). Через 48 годин після введення НЧ Fe показник НСТ-тесту спонтанного майже не змінився, а НСТ-стимульованого збільшився (на 30,8%), тоді як після введення НЧ Cu значення НСТ-тесту спонтанного і стимульованого були вищі за контрольні (на 12,2% і 24,0% відповідно) (рис.). Отримані дані дозволяють припустити про стимулюючий вплив НЧ металів на клітини неспецифічного захисту. Важливим показником, що свідчить про активацію гуморальної імунної відповіді на вплив НЧ металів є концентрація антитіл (імуноглобулінів IgG, IgM, IgA) та утворення ними імунних комплексів (антиген-антитіло). За фізіологічних умов утворені імунні комплекси деякий час циркулюють в крові, після чого відбувається їх елімінація. У наслідок порушення цього процесу вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в крові збільшується. Встановлено, що найбільш небезпечними є ЦІК середньої та низької молекулярної маси, які можуть накопичуватись у судинах тканин і органів та запускати ланцюг патологічних реакцій, зокрема, запальної та аутоімунної [17].

Визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові дослідних щурів показало їх достовірне збільшення як через 24 години, так і через 48 годин після введення НЧ металів (рис.). Зокрема, через 24 години після введення щурам НЧ Fe визначено підвищення вмісту тільки ЦІК високомолекулярних (у 7,3 рази), а через 48 годин збільшення ЦІК обох розмірів (високомолекулярних - у 12,5 разу, низькомолекулярних - у 5,6 разу). Однократне введення щурам НЧ Cu через 24 і 48 годин спричинило достовірне збільшення вмісту ЦІК високомолекулярних (у 3,2 і 41,1 разу), а низькомолекулярних (у 2,4 і 3,3 разу) ( $p < 0,05$  порівняно з показниками в контрольній групі) (рис.). Встановлене нами суттєве

зростання вмісту ЦІК в сироватці крові дослідних щурів після введення НЧ металів може свідчити про активацію гуморальної імунної відповіді - синтез антитіл, надлишок яких і утворює імунні комплекси.

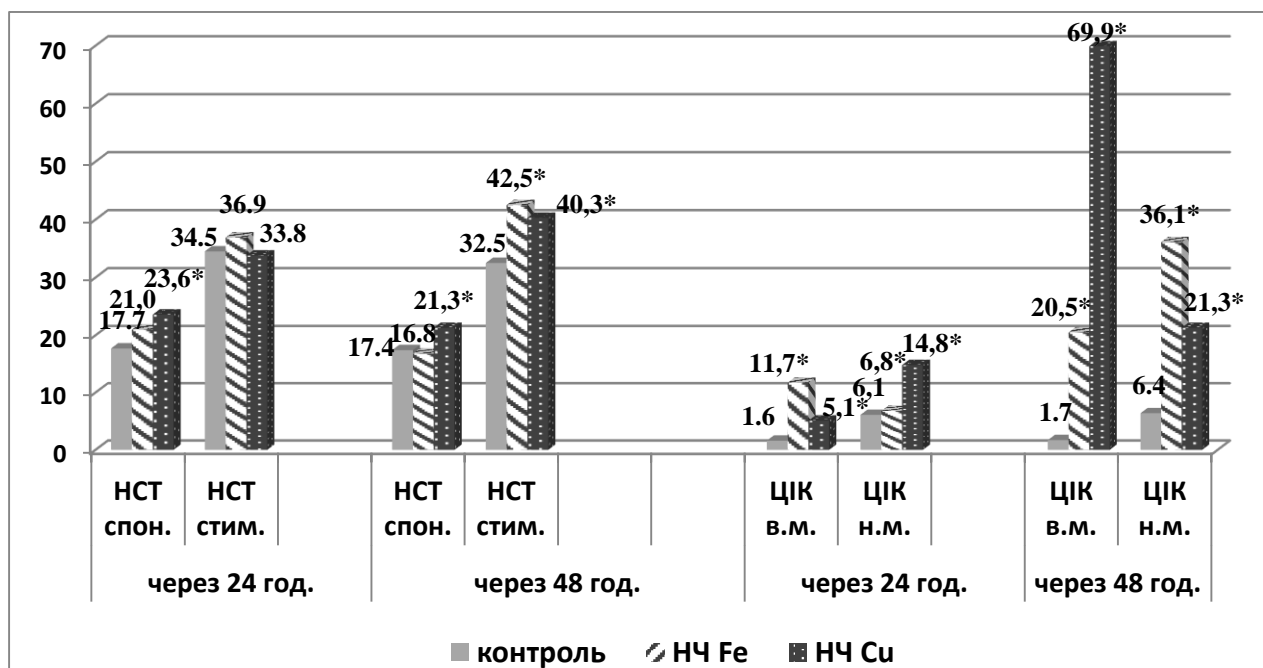


Рис. - Показники НСТ-тесту (%) спонтанного і стимульованого в перитонеальних макрофагах та вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) (умов. од.) в крові щурів після однократного введення їм в очеревину НЧ Fe і НЧ Cu.

Примітка \*- позначена достовірна відмінність показників дослідних груп щурів у порівнянні з контрольною групою,  $p < 0,05$ .

Аналіз та узагальнення отриманих результатів експерименту дозволяє дійти наступних

#### ВИСНОВКІВ:

- Однократне введення в очеревину НЧ Fe 40 нм через 24 і особливо через 48 годин призвело до збільшення концентрації заліза в крові і внутрішніх органах (печінка, нирки) дослідних щурів. За умови введення НЧ Cu 20 нм визначено підвищені рівні вмісту міді в печінці, нирках і тимусі дослідних тварин. Ці дані свідчать про те, що НЧ металів у короткий термін після введення в очеревину надходили у кров і з кровотоком розподілялися і накопичувалися у внутрішніх органах.
- Отримані результати біохімічних досліджень вказують на те, що нанходження і накопичення НЧ Fe і НЧ Cu в організмі щурів викликало ушкодження клітин печінки, зміни ліпідного обміну, про що свідчили підвищена активність трансаміназ (АСТ і АЛТ), концентрації тригліцеридів та холестерину в сироватці крові. При цьому НЧ Cu 20 нм чинили більшу токсичну дію на клітини печінки ніж НЧ Fe 40 нм.



3. Однократне введення НЧ Fe і НЧ Cu в очеревину дослідним щурам вже через 24 години викликало активацію захисних механізмів неспецифічного імунітету (стимуляцію респіраторного вибуху в перитонеальних макрофагах) та гуморальної імунної відповіді (синтез антитіл та утворення імунних комплексів), що свідчить про їх імуностимулюючу дію.

**Перспективи.** Отримані результати під час короткострокового спостереження за поведінкою НЧ Fe і НЧ Cu після однократного введення в організм щурів вказують на наявні у них кумулятивні і токсичні властивості, що потребує додаткових досліджень за умови більш тривалої експозиції.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Чекман І.С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування. *Укр. біохімічний журнал*. 2009. Т.81, № 1. С. 122-129.
2. Нанотехнологии в биологии и медицине. Коллективная монография под ред. чл.-корр. РАМН, проф. Е. В. Шляхто. 2009 г. - <http://prostonauka.com/nano/nanotehnologii-v-biologii-i-medicine>.
3. Нанотехнології в сучасному сільському господарстві /О.В. Ситар, Н.В. Новицька, Н.Ю.Таран [та ін.]. *Фізика живого*. 2010. Т.18. С. 113-116.
4. Лысцов В.Н., Мураин Н.В. Проблемы безопасности нанотехнологий. – М., МИФИ, 2007. 70 с.
5. Трахтенберг І.М., Дмитруха Н.М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості. *Український журнал з проблем медицини праці*. 2013. № 4 (37). С. 62-74.
6. Картель М.Т., Терещенко В.П. Концепція методології ідентифікації та токсикологічних досліджень наноматеріалів і оцінки ризику для людського організму та довкілля при їх виробництві і застосуванні. Межведомственный сборник научн. Трудов «Химия, физика и технология поверхности», Киев, Наукова думка. 2008. Выпуск 14. С.565-583.
7. Wani M.Y., Hashim M.A., Nabi F., Malik M.A. Nanotoxicity: Dimensional and Morphological Concerns. Review Article. *Advances in Physical Chemistry*. 2011, Article ID 450912, 15 pages doi:10.1155/2011/450912
8. Dobrovolskaia M.A., S.E. McNeil Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature Nanotechnology*. 2007. 2. 469-478.
9. Коваленко Л.В., Фолманис Г.Э. Биологически активные нанопорошки железа.– М.: Наука, 2006. 124с.
10. Чекман І.С., Дорошенко А.М. Взаємодія наночастинок оксиду заліза з клітиною та компонентами біомембрани. *Український медичний часопис*. 2012. №1 (87) I – II, С.31-37.
11. Экспериментальные данные к оценке пульмонотоксичности и резорбтивной

- токсичности частиц магнетита ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) нано- и микрометрового диапазона / Б.А. Канцельсон, Л.И. Привалова, С.В. Кузьмин [и др.]. *Токсикологический вестник*. 2010. № 2. С.17-24.
12. Строче А.А. Влияние наночастиц меди на активность индикаторных ферментов сыворотки крови при перкутанном введении лабораторным животным. *Bulletin of Medical Internet Conferences*. 2012. Vol.2. Issue 4. 180 p.
13. Chen Z., Meng H., Hing G. Acute toxicological effect of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letters*. 2006. Vol.163. P. 109-120.
14. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.14.
15. Атомно-абсорбційні методи визначення макро- та мікроелементів у біологічних середовищах при порушеннях їх обміну в організмі людини. Методичні рекомендації: укладачі В.Ф. Демяченко, І.М. Андрусина, О.Г. Лампека, І.О. Голуб. – К.: ВД «Авіцена», 2010. 60 с.
16. Медицинские лабораторные технологии. Справочник /Под редакцией проф. А.И. Карпищенко. – Санкт-Петербург: Интермедика.2002. 600с.
17. Пастер Е.У., Овод В.В., Позур В.К., Віхоть Н.Е. Иммунология : Практикум. К.: Вища шк., 1989. 304 с.
18. Сепиашвили Р.И. Введение в иммунологию. Цхалтубо, Кутаиси, 1987. 230 с.

#### REFERENCES

1. Chekman I.S. Nanochastynky: vlastyvoli ta perspektyvy zastosuvannia. *Ukr. biokhimichni zhurnal*. 2009. Vol.81, № 1. P. 122-129. (in Ukrainian). Nanotehnologii v biologii i meditsine.
2. Kollektivnaya monografiya pod red. chl.-korr. RAMN, prof. E. V. Shlyahoto. 2009 г. - <http://prostonauka.com/nano/nanotehnologii-v-biologii-i-medicine>. (in Russian).
3. Nanotekhnohii v suchasnomu silskomu hospodarstvi /O.V. Sytar, N.V. Novytska, N.Iu.Taran [ta in.]. *Fizyka zhyvoho*. 2010. T.18. С. 113-116. (in Ukrainian).
4. Lyistsov V.N., Murain N.V. Problemy bezopasnosti nanotehnologiy. M., MIFI, 2007. 70 с. (in Russian).
5. Trakhtenberh I.M., Dmytrukha N.M. Nanochastynky metaliv, metody otrymannia, sfery zastosuvannia, fizyko-khimichni ta toksychni vlastyvoli. *Ukrainskyi zhurnal z problem medytsyny pratsi*.2013. № 4 (37). P. 62-74. (in Ukrainian).
6. Kartel M.T., Tereshchenko V.P. Kontsepsiia metodolohii identyfikatsii ta toksykolohichnykh doslidzhen nanomaterialiv i otsinky ryzyku dlia liudskoho orhanizmu ta dovkillia pry yikh vyrobnytstvi i zastosuvanni. Mezhhvedomstvennyi sbornyk nauchn. Trudov «Khymyia, fizyka y tekhnolohyia poverkhnosti», Kyev, Naukova dumka. 2008. Iss. 14. P.565-583. (in Ukrainian).

7. Wani M.Y., Hashim M.A., Nabi F., Malik M.A. Nanotoxicity: Dimensional and Morphological Concerns. Review Article. *Advances in Physical Chemistry*. 2011, Article ID 450912, 15 pages doi:10.1155/2011/450912
8. Dobrovolskaia M.A., S.E. McNeil Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature Nanotechnology*. 2007. №2. P. 469-478.
9. Kovalenko L.V., Folmanis G.E. Biologicheski aktivnyie nanoporoshki zheleza.– M.: Nauka, 2006. 124 p. (in Russian).
10. Chekman I.S., Doroshenko A.M. Vzaiemodiia nanochastynok oksydu zaliza z klitynoiu ta komponentamy biomembrany. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*. 2012. №1 (87) I – II, С.31-37. (in Ukrainian).
11. Eksperimentalnyie dannyie k otsenke pulmonotoksichnosti i rezorbtivnoy toksichnosti chastits magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nano- i mikrometrovogo diapazona / B.A. Kantselson, L.I. Privalova, S.V. Kuzmin [i dr.]. *Toksikologicheskii vestnik*. 2010. № 2. P.17-24. (in Russian).
12. Strode A.A. Vliyanie nanochastits medi na aktivnost indikatornyih fermentov syvorotki krovi pri perkutannom vvedenii laboratornyim zhivotnyim *Bulletin of Medical Internet Conferences*. 2012. Vol.2. Issue 4. 180 p. (in Russian).
13. Chen Z., Meng H., Hing G. Acute toxicological effect of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letters*. 2006. Vol.163. P. 109-120.
14. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.14.
15. Chekman I.S., Doroshenko A.M. Vzaiemodiia nanochastynok oksydu zaliza z klitynoiu ta komponentamy biomembrany. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*. 2010. 60 p. (in Ukrainian).
16. Meditsynskie laboratornyie tehnologii. Spravochnik /Pod redaktsiyei prof. A.I. Karpischenko. – Sankt-Peterburg: Intermedika. 2002. 600 p. (in Russian).
17. Paster E.Y., Ovod V.V., Pozur V.K., Vikhot N.E. Immunologia : Praktikum. K.: Vyshcha shk. 1989. 304 p. (in Russian).
18. Sepiashvili R.I. Vvedenie v immunologiyu. Tshaltubo, Kutaisi, 1987. 230 p. (in Russian).

### **ОСОБЕННОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ Fe И Cu НА ОРГАНИЗМ КРЫС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ИХ ВВЕДЕНИЯ В БРЮШИНУ**

Дмитруха Н.Н., Короленко Т.К., Лагутина О.С., Андрусина И.М., Легкоступ Л.А.

*Аннотация. В статье представлены результаты исследования токсического действия наночастиц Fe 40 нм и Cu 20 нм на организм крыс при условии изолированного однократного введения в брюшину. Исследования проведены через 24 и 48 часов после введения НЧ металлов. У контрольных и опытных крыс определяли концентрацию железа и меди в крови и внутренних органах; биохимические показатели, характеризующие состояние печени и почек;*

активность перитонеальных макрофагов и содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови. Установлено, что однократное введение НЧ Fe в брюшину крыс привело к увеличению содержания железа в крови, печени и почках, а НЧ Cu к повышению концентрации меди в печени, почках и тимусе. Краткосрочная экспозиция НЧ Fe и НЧ Cu вызвала повышение активности трансаминаз, увеличение концентрации мочевой кислоты, холестерина и триглицеридов в сыворотке крови опытных крыс, как следствие повреждения клеток печени и почек. Введение НЧ металлов в брюшину крыс стимулировало образование активных форм кислорода в клетках перитонеального экссудата - макрофагах и повышение уровня низко- и высокомолекулярных ЦИК в крови, что указывает на иммуностимулирующее действие исследуемых НЧ металлов.

**Ключевые слова:** наночастицы Fe и Cu, токсичность, цитотоксичность

### **PECULIARITIES OF THE TOXIC EFFECT OF Fe AND Cu NANOPARTICLES ON THE RATS ORGANISM AFTER A SINGLE INJECTION INTO THE PERITONEUM**

Dmytrukha N.M, Korolenko T.K, Lahutina O.S, Andrusishyna I.M, Legkostup L.A.

*Abstract. The article presents the results of a study of the toxic effect of nanoparticles Fe 40 nm and Cu 20 nm on the rat organism under the condition of an isolated single injection into the peritoneum. The studies were carried out after 24 and 48 hours of metals NPs injection. The concentration of iron and copper in the blood and organs of control and experimental rats; biochemical indicators characterizing the state of the liver and kidneys; activity of peritoneal macrophages and the content of circulating immune complexes (CIC) in blood serum were determined. It was found that a single injection of Fe NPs into the peritoneum of rats led to an increase of the iron content in the blood, liver and kidneys, and Cu NPs to an increase of copper in the liver, kidneys, and thymus. Short-term exposure to Fe NPs and Cu NPs caused an increase of transaminase activity, uric acid, cholesterol, and triglycerides concentration in the blood serum of experimental rats, as a result of damage of liver and kidney cells. The introduction of metals NPs into the peritoneum of rats stimulated the formation of reactive oxygen species in peritoneal exudate cells - macrophages and an increase of the level of low- and high-molecular CIC in the blood, which indicates the stimulation of immune effect of this metals NPs.*

**Key words:** Fe and Cu nanoparticles, toxicity, cytotoxicity.

Дослідження виконано за НДР : «Дослідження особливостей токсичної дії наночастинок важких металів, пошук та обґрунтування засобів профілактики» № держреєстрації 0116U000497

Дмитруха Наталья Миколаївна, ORCID ID 0000-0001-9161-3889; тел.: + 38 0 44 289 51 85; dmytrukha@ukr.net

Короленко Т. К. ORCID ID 0000-0003-1390-4132;

Лагутіна О. С. ORCID ID 0000-0003-0723-1293;

Легкоступ Л.А. ORCID ID 0000-0002-8352-5616.