

УДК [577.115.4:[546.815-168:612.79]]:57.084

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ОРГАНІЗМІ ШУРІВ ПРИ ВПЛИВІ МІКРО- І НАНОЧАСТИНОК НЕОРГАНІЧНИХ СПОЛУК СВИНЦЮ НА НЕПОШКОДЖЕНУ ШКІРУ

Мельник Н. А.**Державна установа «Інститут медицини праці Національної академії медичних наук України», м. Київ**

Вступ. Одним з проявів токсичної дії сполук свинцю на організм є розвиток процесів вільнорадикального окиснення ліпідів у крові, печінці, нирках, серці, мозку. Проте залишається відкритим запитання щодо впливу наночастинок (НЧ) свинцю на стан систем перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту організму (АОЗ) при їхньому нанесенні на непошкоджену шкіру.

Мета дослідження – характеристика процесів ПОЛ та АОЗ в організмі шурів при дії на непошкоджену шкіру різних за розміром сполук свинцю.

Матеріали та методи дослідження. На щурах відтворювали експериментальну модель хронічної інтоксикації НЧ PbS. Для цього були використані колоїди НЧ PbS з розміром частинок 12,5 нм і 100,0 нм, стабілізовані в 1,0 і 0,5 % водних розчинах желатину, а також водний розчин ацетату свинцю (АС) з середнім розміром частинок 700 нм. Перед проведенням аплікацій 1 мл основного розчину колоїду розводили 5-кратним об'ємом деіонізованої води, після чого на шкіру тварин площею 2 см² наносили 1 см³ розчину НЧ. Активність процесів ПОЛ визначали за концентрацією ТБК-активних продуктів – малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові (за методом Mihara в модифікації Є. Н. Коробейникової), а характеристику процесів, спрямованих на АОЗ, визначали за показниками активності ферментів каталази (КТ, КФ 1.11.1.6) (за методом М. А. Королюк) та супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.1.15.1.) за (методом, описаним Є. Є. Дубініною) в еритроцитах.

Результати. Проведені дослідження показали, що НЧ PbS розміром 12,5 нм і 100,0 нм здатні викликати в організмі шурів порушення в системі ПОЛ та АОЗ організму. На це вказує статистично значиме ($p_u < 0,05$) порівняно з контролем збільшення показника концентрації МДА в сироватці крові піддослідних шурів та пригнічення активності ферментів КТ і СОД в еритроцитах. За характером змін біохімічних показників НЧ PbS розміром 12,5 нм і 100,0 нм виявляють більш виражений токсичний ефект порівняно з АС.

Висновки. Вплив неорганічних сполук свинцю, представлених частинками мікро- і нанометрового діапазону, шляхом їхнього тривалого (3 міс.) нанесення на непошкоджену шкіру шурів супроводжується розвитком оксидативного стресу в організмі тварин.

Ключові слова: шкіра шурів, наночастинок свинцю, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система

Вступ

Вивчення особливостей впливу на людину сполук свинцю в наноформі, що надходять з об'єктів виробничого та навколишнього середовища, є однією з актуальних завдань сучасної медичної науки. Відомо, що особливі технологічні умови, такі як висока температура, запиленість, наявність аерозолів, конденсації при виплавці свинцю, а також зварювання та різання конструкцій, рекуперація свинцевих акумуляторів і батарей, сприяють надходженню в повітря робочої зони ультрадисперсних частинок свинцю нанорозмірного діапазону [1].

Відомо, що одним з провідних механізмів токсичної дії наночастинок (НЧ) сполук важких металів на живий організм є посилення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та розвиток оксидативного стресу через ослаблення захисної дії антиоксидантних ферментів. Це супроводжується зміною конформації ліпідів, що призводить до порушення структурних і функціональних властивостей біомембран, підвищення їхньої лабільності та проникності, розбалансування ферментних систем мембран, порушення електротранспортних ланцюгів мітохондрій. Крім того, продукти вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ВРПОЛ) ушкоджують білки, тіолові сполуки,

нуклеотидфосфати, змінюють ступінь гліколізу, ушкоджують ДНК з утворенням її одноланцюгових розривів [2]. За оцінкою активності процесів ПОЛ та ступеня зсуву рівноваги між прооксидантами та антиоксидантами можна розглянути об'єктивні й дуже чутливі показники загального стану організму, активності й функціонування систем підтримки гомеостазу [3].

У багатьох, раніше проведених експериментальних дослідженнях, була показана важлива роль порушень у активності системи ВРПОЛ у реалізації механізму токсичного впливу важких металів, зокрема, свинцю на організм експериментальних тварин [4]. Зокрема, у печінці щурів введення свинцю викликало посилення ПОЛ на фоні зниження активності супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), глутатіонпероксидази (ГП) та глутатіонредуктази (ГР), а також падіння співвідношення відновленого/окисненого глутатіону [5]. Внутрішньом'язове введення ацетату свинцю (АС) викликало суттєве пригнічення синтезу і зниження рівня гемоглобіну в крові. Ці зміни супроводжувалися зростанням ПОЛ і зменшенням активностей СОД, КТ, глутатіон-S-трансферази і низькомолекулярних антиоксидантів.

Хронічне надходження свинцю з питною водою (1 г/л) призводило до розвитку окисного стресу в мозку щурів, який характеризувався підвищенням ПОЛ та зниженою активністю глутатіонпероксидази (ГП) та глутатіонредуктази (ГР) на тлі порівняльної стабільності супероксиддисмутази (СОД), а також вмісту токоферолу та карбонілування білків [6].

Обумовлений свинцем окиснювальний стрес в мозку може приймати затяжну форму з збереженням ознак стресу після припинення введення свинцю. Наприклад, у мишей, навіть через 40 діб після

припинення введення іонів металу, зберігалася зниження активності КТ [7].

Отже, вплив сполук свинцю на організм веде до посилення процесів ВРПОЛ у печінці, нирках, серці, мозку. Однак залишається відкритим питання щодо впливу сполук свинцю на організм при їхньому нанесенні на непошкоджену шкіру.

Мета дослідження — характеристика процесів ПОЛ та АОЗ в організмі щурів при дії на непошкоджену шкіру різних за розміром сполук свинцю.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на 60 білих лабораторних щурах, самцях лінії Вістар, масою 130–180 г, яких утримували в стандартних умовах віварію згідно з рекомендаціями [8], на стандартному харчовому раціоні та з вільним доступом до водогінної води, яка відстоювалася впродовж 24 год. Було сформовано 3 експериментальні серії, у кожній по 18 щурів і по 6 в групі, а також контрольну, в якій було 6 інтактних щурів. Експериментальне дослідження на щурах було проведено з дотриманням чинних вимог щодо їхнього захисту від жорсткого поводження [9] після отримання відповідного висновку Комісії з біоетики ДУ «Інститут медицини праці НАМН України».

Для проведення експериментального дослідження на щурах використовували колоїдні розчини НЧ сульфиду свинцю (PbS) з розміром частинок 12,5 нм і 100,0 нм, які були синтезовані в Інституті фізичної хімії імені Л. В. Писаржевського НАН України і стабілізовані в 1,0 і 0,5 % водних розчинах желатину. Разом з цим було використано аналогічний розчин АС з середнім розміром частинок 700,0 нм. Основні фізико-хімічні характеристики колоїдів неорганічних сполук свинцю надано в таблиці 1.

Таблиця 1

Фізико-хімічні властивості неорганічних сполук свинцю та характеристика їхніх колоїдних розчинів

Хімічна речовина $\frac{MM (г/моль)}{\rho (г/л)}$	Концентрація речовини, г/л	Частинки			
		Розмір частинок, нм	Об'єм частинок, м ³	Площа поверхні частинок, м ²	Концентрація частинок у розчинах, /л
PbS $\frac{239,3}{7,6}$	0,239	12,5	$1,019 \cdot 10^{-24}$	$4,9 \cdot 10^{-16}$	$3,08 \cdot 10^{16}$
		100,0	$5,22 \cdot 10^{-22}$	$3,14 \cdot 10^{-14}$	$1,23 \cdot 10^{14}$
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ $\frac{325,29}{2,25}$	0,379	700,0	$2,122 \cdot 10^{-20}$	$1,59 \cdot 10^{-12}$	$7,93 \cdot 10^{12}$

Розмір частинок визначали за допомогою методів динамічного розсіювання світла та растрової електронної мікроскопії, для чого було використано електронний растровий мікроскоп «Tescan MIRA3» (Tesla) з системою локального елементного енергодисперсійного мікроаналізу «Oxford Advanced Aztec Energy (IE350) / X-max 80».

Робочі розчини колоїдів готували щодня, шляхом 10-кратного розведення матричних розчинів деіонізованою водою. Розчини щодня (5 днів на тиждень), упродовж 3 місяців наносили на 4 год на ділянки шкіри спини щурів, на яких вовна була попередньо вистрижена ножицями на площі 2 см². Усі колоїди перед їх використанням стандартизували за масовою часткою хімічної речовини, яка дорівнювала 0,01 ммоль/л. З урахуванням розведення колоїдів і їхніх фізико-хімічних характеристик концентрація нанесених на шкіру щурів частинок АС розміром 700,0 нм становила 0,793/см², НЧ PbS розміром 12,5 нм — 0,308 · 10¹²/см², а НЧ PbS розміром 100,0 нм — 0,123 · 10¹²/см².

Забій щурів проводили через 1, 2 та 3 місяці (група 1, 2 і 3 відповідно) шляхом декапітації під наркозом. Для цього в черевну порожнину тварин шприцом вводили 2,5 % розчин 2,2,2-триброметанолу («Aldrich») в 2-метилбутанолі (робоче розведення 1:50 в PBS) із розрахунку 300 мг/кг (протокол оптимізовано в лабораторії медико-біологічних критеріїв професійних впливів ДУ «Інститут медицини праці НАМН України»). Для проведення біохімічних досліджень забирали кров для отримання сироватки та суспензії еритроцитів. У сироватці крові визначали концентрацію ТБК-активних продуктів — малоновий діальдегід (МДА), а в еритроцитах — активність ферментів КТ (КФ 1.11.1.6) та СОД (КФ 1.1.15.1.). Концентрацію МДА визначали за методом Mihara в модифікації Є. Н. Коробейникової [10], а активність КТ і СОД — за методами, описаними М. А. Королюк [11] і Дубініною [12]. Статистичну обробку результатів проводили методом непараметричної статистики за допомогою програмного продукту STATISTICA 6,0 (StatSoft, S/N 31415926535887). Перевірку статистичних гіпотез проводили за критерієм U-Уїлкоксона-Манна-Уїтні при рівні значимості $\alpha = 0,05$ ($p_u < 0,05$). Усі отримані результати представляли у вигляді мінімальних і максимальних значень показників, медіани (Me) та міжквартильних 25 і 75% інтервалів (Q25; Q75).

Результати дослідження та їх обговорення

Результати проведеного біохімічного дослідження показали, що в інтактних щурів (контрольна група) концентрація МДА у сироватці крові коливалася на рівні мінімальних і максимальних значень у межах 7,13–8,58 нмоль/мг протеїну (табл. 2), визначаючи показники Me (Q25; Q75) у групі на рівні 8,09 (7,52–8,17). Разом з цим активність ферментів КТ та СОД в еритроцитах крові визначалася в межах 7,26–8,42 нмоль/мг Hb · хв⁻¹ та 8,86–9,78 нмоль/мг Hb · хв⁻¹ відповідно, дорівнюючи тим самим значенням Me (Q25; Q75) у групі на рівні 7,88 (7,41; 8,20) і 9,20 (8,95; 9,25) відповідно (табл. 2).

У динаміці хронічної дії на непошкоджену шкіру щурів розчину АС (І серія) показник концентрації МДА у сироватці крові щурів 1 та 2 груп статистично значимо не відрізнявся від контролю (табл. 2; рис. 1 а), при тому, що в щурів 3 групи він був значимо більшим за контроль ($p_u < 0,05$; табл. 2; рис. 1 а), визначаючи Me (Q25; Q75) на рівні 8,79 (8,19; 9,14). Необхідно відмітити, що в динаміці хронічної дії на непошкоджену шкіру щурів АС в усіх групах тварин виявляли значне зменшення активності КТ в еритроцитах ($p_u < 0,05$; табл. 2; рис. 2 а), яке відбувалося на фоні відсутності в них будь-яких значимих змін активності СОД (табл. 2; рис. 3 а).

Результати проведеного кореляційного аналізу показали, що дія на непошкоджену шкіру щурів АС упродовж 2 місяців (2 група) супроводжувалася формуванням зворотного кореляційного зв'язку між концентрацією МДА сироватки крові та активністю КТ еритроцитів ($r = -0,850$; $p < 0,05$), а дія АС впродовж 3 місяців (3 група) — аналогічного зв'язку між активністю ферментів КТ і СОД в еритроцитах ($r = -0,850$; $p < 0,05$).

У динаміці хронічного впливу на непошкоджену шкіру щурів НЧ PbS розміром 12,5 нм (ІІ серія) в усіх групах тварин було виявлено статистично значиме збільшення концентрації МДА сироватки крові ($p_u < 0,05$; табл. 2; рис. 1 б) порівняно з контролем, яке в щурів 2 та 3 груп супроводжувалося пригніченням в еритроцитах активності КТ ($p_u < 0,05$; табл. 2; рис. 2 б), а у щурів 3 групи — також пригніченням активності СОД ($p_u < 0,05$; табл. 2; рис. 3 б).

Результати кореляційного аналізу показали, що за умови хронічної дії на непошкоджену шкіру щурів НЧ PbS розміром 12,5 нм в організмі тварин

Таблиця 2

Зміни біохімічних показників перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту в динаміці хронічної дії на непошкоджену шкіру щурів неорганічних сполук свинцю, представлених частинками мікро- і нанометрового діапазону

Група	Показник					
	Малоновий діальдегід		Супероксиддисмутаза		Каталаза	
	$\frac{\min}{\max}$	$\frac{Me}{(Q_{25} - Q_{75})}$	$\frac{\min}{\max}$	$\frac{Me}{(Q_{25} - Q_{75})}$	$\frac{\min}{\max}$	$\frac{Me}{(Q_{25} - Q_{75})}$
1 місяць						
Контроль	$\frac{7,13}{8,58}$	$\frac{8,09}{(7,52 - 8,17)}$	$\frac{8,86}{9,78}$	$\frac{9,20}{(8,95 - 9,25)}$	$\frac{7,26}{8,42}$	$\frac{7,88}{(7,41 - 8,20)}$
Ацетат Pb	$\frac{7,86}{8,34}$	$\frac{8,22}{(8,19 - 8,29)}$	$\frac{8,60}{9,27}$	$\frac{9,19}{(8,70 - 9,23)}$	$\frac{6,62}{8,05}$	$\frac{7,55}{(6,85 - 7,59)}$
Наночастинки PbS, 12,5 нм	$\frac{7,89}{8,64}$	$\frac{8,33}{(8,22 - 8,38)}$	$\frac{8,98}{9,45}$	$\frac{9,24}{(9,01 - 9,29)}$	$\frac{6,90}{8,41}$	$\frac{7,70}{(7,47 - 7,98)}$
Наночастинки PbS, 100,0 нм	$\frac{8,15}{8,44}$	$\frac{8,26}{(8,19 - 8,36)}$	$\frac{8,57}{9,32}$	$\frac{9,11}{(8,67 - 9,25)}$	$\frac{6,98}{8,20}$	$\frac{7,59}{(7,29 - 8,10)}$
2 місяці						
Ацетат Pb	$\frac{7,51}{8,72}$	$\frac{8,20}{(7,72 - 8,36)}$	$\frac{9,06}{9,25}$	$\frac{9,11}{(9,08 - 9,20)}$	$\frac{7,32}{7,89}$	$\frac{7,50}{(7,45 - 7,65)}$
Наночастинки PbS, 12,5 нм	$\frac{9,88}{10,69}$	$\frac{10,62}{(10,21 - 10,64)}$	$\frac{8,87}{9,27}$	$\frac{9,10}{(8,98 - 9,25)}$	$\frac{7,39}{7,62}$	$\frac{7,57}{(7,44 - 7,60)}$
Наночастинки PbS, 100,0 нм	$\frac{8,64}{9,07}$	$\frac{9,02}{(8,81 - 9,04)}$	$\frac{8,82}{9,21}$	$\frac{9,00}{(8,88 - 9,10)}$	$\frac{7,16}{7,78}$	$\frac{7,60}{(7,42 - 7,68)}$
3 місяці						
Ацетат Pb	$\frac{8,13}{9,17}$	$\frac{8,79}{(8,19 - 9,14)}$	$\frac{8,94}{9,20}$	$\frac{9,16}{(9,00 - 9,18)}$	$\frac{7,35}{7,68}$	$\frac{7,45}{(7,35 - 7,57)}$
Наночастинки PbS, 12,5 нм	$\frac{9,07}{10,04}$	$\frac{9,24}{(9,10 - 9,58)}$	$\frac{8,93}{9,04}$	$\frac{9,01}{(8,95 - 9,03)}$	$\frac{6,74}{7,18}$	$\frac{6,99}{(6,90 - 7,08)}$
Наночастинки PbS, 100,0 нм	$\frac{9,44}{10,81}$	$\frac{10,22}{(9,62 - 10,79)}$	$\frac{8,87}{9,06}$	$\frac{8,96}{(8,90 - 9,01)}$	$\frac{6,90}{7,12}$	$\frac{7,08}{(7,02 - 7,10)}$

І та 2 груп відбуваються функціональні перебудови в системі ПОЛ і АОЗ, які характеризуються формуванням сильних кореляційних зв'язків між концентрацією МДА сироватки крові та активністю КТ в еритроцитах крові ($r = 0,666$; $p < 0,05$ та $r = 0,736$; $p < 0,05$ відповідно).

При дії на непошкоджену шкіру піддослідних щурів НЧ PbS розміром 100,0 нм (ІІІ серія) в усіх групах тварин було виявлено статистично значиме збільшення показника концентрації МДА сироватки крові ($p_u < 0,05$; табл. 2; рис. 1 в) порівняно з контролем, яке в динаміці хронічного експерименту проявляло експоненціальний характер. Такий характер змін цього біохімічного показника в динаміці хронічного впливу на непошкоджену шкіру тварин НЧ PbS розміром 100,0 нм може бути свідченням розвитку «дозо- часо- залежного» токсичного ефекту. Разом з цим було встанов-

лено, що лише в щурів 3 групи збільшення концентрації МДА сироватки крові супроводжувалося статистично значимим пригніченням активності КТ еритроцитів ($p_u < 0,05$; табл. 2; рис. 2 в) порівняно з контролем при відсутності будь-яких статистично значимих змін з боку активності СОД (табл. 2; рис. 3 в).

Результати проведеного кореляційного аналізу показали, що через 3 місяці від початку нанесення на непошкоджену шкіру щурів НЧ PbS розміром 100,0 нм збільшення в них концентрації МДА виявляло позитивну кореляцію зі змінами активності КТ ($r = 0,722$; $p < 0,05$) і СОД ($r = 0,811$; $p < 0,05$). Це може вказувати на те, що наприкінці 3-місячного експерименту в організмі піддослідних щурів у відповідь на тривалий вплив на їхню непошкоджену шкіру НЧ PbS розміром 100,0 нм відбуваються складні функціональні перебудови в системі ПОЛ і АОЗ, які

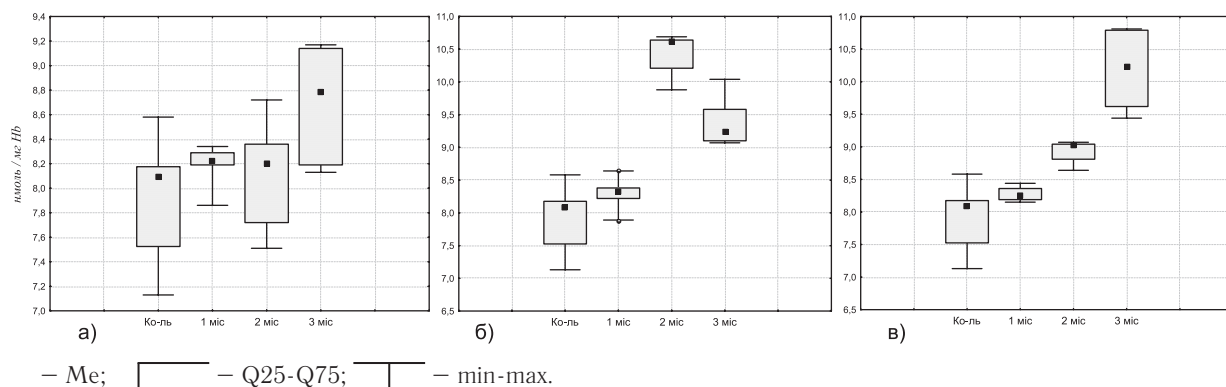


Рис. 1. Зміни концентрації малонового діальдегіду в сироватці крові щурів (нмоль/мг Hb) у динаміці хронічного впливу на їхню непошкоджену шкіру розчину ацетату свинцю (а) та колоїдних розчинів наночастинок PbS з розміром частинок 12,5 нм (б) та 100,0 нм (в)

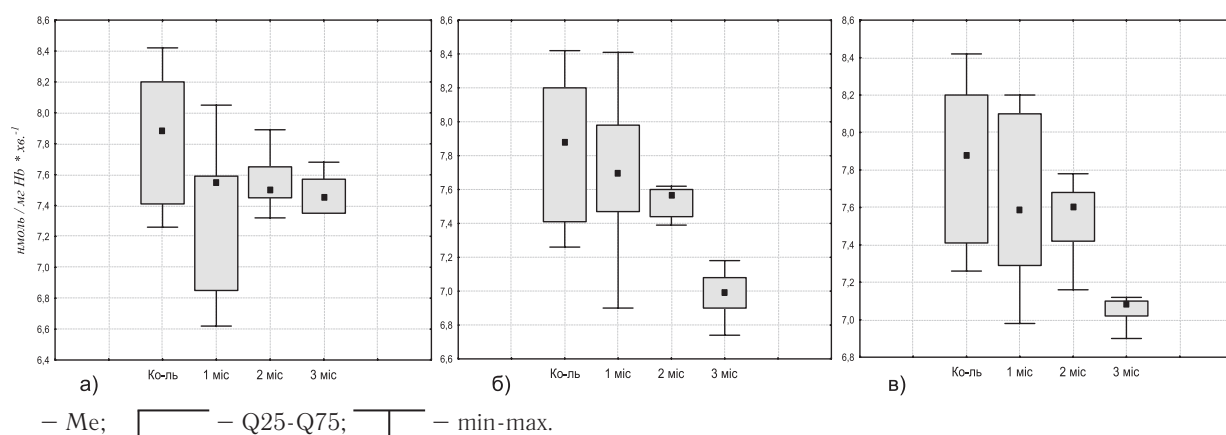


Рис. 2. Зміни активності ферменту каталази в еритроцитах крові щурів (нмоль / мг Hb · хв⁻¹) у динаміці хронічного впливу на їхню непошкоджену шкіру розчину ацетату свинцю (а) та колоїдних розчинів наночастинок PbS з розміром частинок 12,5 нм (б) та 100,0 нм (в)

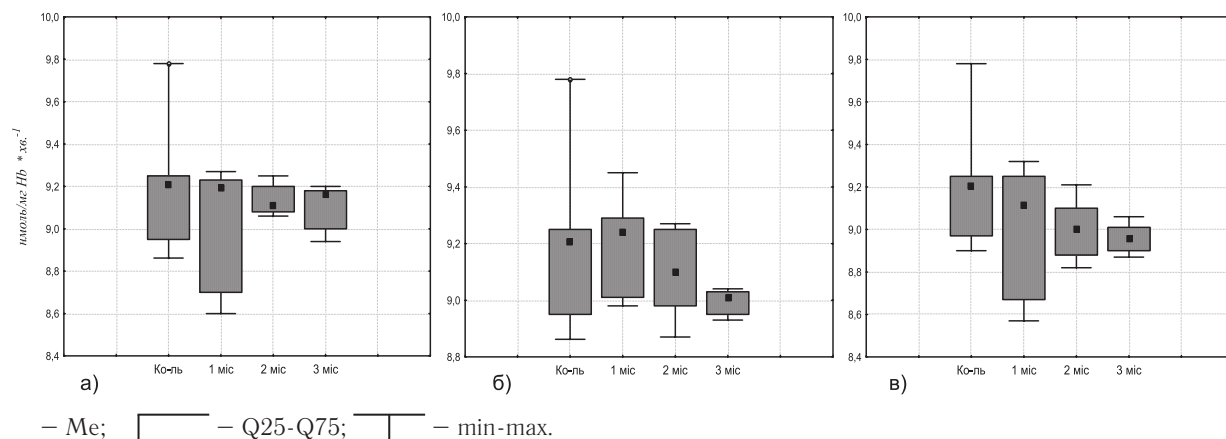


Рис. 3. Зміни активності супероксиддисмутази в еритроцитах крові щурів (нмоль / мг Hb · хв⁻¹) у динаміці хронічного впливу на їхню непошкоджену шкіру розчину ацетату свинцю (а) та колоїдних розчинів наночастинок PbS з розміром частинок 12,5 нм (б) та 100 нм (в)

зумовлені збільшенням інтенсивності процесів ПОЛ та пригніченням системи АОЗ організму.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що за умови хронічного, упродовж 3 місяців, впливу на непошкоджену шкіру лабораторних щурів неорганічних сполук Pb, представлених частинками мікро- та нанометрового діапазону, в їхньому організмі відбуваються зміни біохімічних показників, які переконливо свідчать про збільшення інтенсивності процесів ПОЛ і пригнічення активності системи АОЗ. Це узгоджується з даними літератури про те, що екзогенний вплив свинцю на організм супроводжується розвитком оксидативного стресу з порушеннями процесів ПОЛ і АОЗ [13, 14]. Аналізуючи результати проведених експериментальних досліджень необхідно відмітити, що за умови хронічної дії на непошкоджену шкіру щурів АС та НЧ PbS з розміром частинок 12,5 нм і 100,0 нм найвираженіший ефект токсичної дії за даними змін біохімічних показників, які характеризують активність процесів ПОЛ і АОЗ, проявляють виключно НЧ PbS. Разом з цим серед різних за розміром НЧ PbS найвираженіший токсичний ефект проявляють НЧ PbS розміром 12,5 нм. Імовірно, що неорганічні сполуки Pb, представлені частинками нанометрового діапазону, набувають певних фізико-хімічних властивостей, які забезпечують здатність їх до резорбції в організм через непошкоджену шкіру. При цьому характер, спектр вираженості змін біохімічних показників крові піддослідних щурів, а також особливості метаболічних перебудов у системі ПОЛ і АОЗ вказують на те, що ефекти токсичної

дії НЧ PbS при їхньому тривалому впливі на непошкоджену шкіру зумовлені не тільки дозою (масовою часткою) Pb, але й розміром частинок, що визначає ефективну площу їхньої поверхні. Остання, як відомо, збільшується по мірі зменшення розміру НЧ [15]. Цілком логічно, що зменшення розміру НЧ PbS зумовлює збільшення ефективної площі їхньої поверхні, яка визначає ефект взаємодії НЧ з різними структурними елементами епідермісу шкіри та її придатків.

Висновки

1. Хронічний, упродовж 3 місяців, вплив на непошкоджену шкіру щурів НЧ PbS здатний викликати в їхньому організмі порушення в системі ПОЛ та АОЗ, що в динаміці хронічного експерименту характеризується статистично значимим ($p_u < 0,05$) збільшенням показника концентрації МДА сироватки крові та пригніченням активності КТ і СОД еритроцитів, яке набуває вираженого характеру наприкінці експерименту.
2. Інтенсивність, характер і направленість біохімічних змін, які характеризують стан процесів ПОЛ і АОЗ в умовах тривалого впливу на непошкоджену шкіру щурів НЧ PbS, свідчать про те, що за дії НЧ PbS розміром 12,5 нм збільшується ефект токсичної дії порівняно з дією НЧ PbS 100,0 нм, який ймовірно зумовлений більш значною площею поверхні нанесених на шкіру НЧ, яка забезпечує збільшення сумарної площі їхньої взаємодії зі структурами епідермісу.

Література

1. Дмитруха Н. М. Характеристика імунотоксичної дії сполук свинцю з мікро- та наночастинками / Н. М. Дмитруха, С. П. Луговський, О. С. Лагутіна // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. – 2014. – № 1–2. – С. 59–66.
2. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, Ю. І. Губський [та ін.] // Совр. проблемы токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 24–31.
3. Wickens A. P. Ageing and the free radical theory / A. P. Wickens // Respir. Physiol. – 2001. – V. 128. – № 3. – P. 379–391.
4. Стежка В. А. Состояние свободнорадикального окислительного гомеостаза у человека при воздействии соединений свинца // В. А. Стежка, Ю. П. Мельник // Совр. проблемы токсикологии. – 2003. – № 2. – С. 50–54.
5. Sandhir R. Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats / R. Sandhir, K. D. Gill // Biol. Trace Elem. Res. – 1995. – V. 48. – P. 77–85.
6. Adonaylo V. N. Lead intoxication antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain / V. N. Adonaylo // Toxicology. – 1999. – V. 135. – P. 77–85.
7. Effects of chronic lead administration on ethanol-induced locomotor and brain catalase activity / M. Correa, M. Miquel, C. Sanchis-Segura, C. M. Aragon // Alcohol. – 1999. – V. 19. – P. 43–49.
8. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – Київ : Авіцена, 2002. – 156 с.
9. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.
10. Коробейникова Е. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в

реакции с тиобарбитуровой кислотой / Е. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9

11. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

12. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. Я. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30–33.

13. Трахтенберг И. М. Свинец и окислительный стресс / И. М. Трахтенберг, Т. К. Короленко, Н. А. Утко // Соврем. пробл. токсикол. – 2001. – № 4. – С. 50–53.

14. Першин О. І. Оксидативний стрес в патогенезі дії ацетату свинцю / О. І. Першин // Світ медицини та біології. – 2014. – № 1. – С. 142–146.

15. Нанонаука і нанотехнології: технічний, медичний та соціальні аспекти / Б. Патон, В. Москаленко, І. Чекман, Б. Мовчан // Вісн. НАН України. – 2009. – № 6. – С. 18–26.

Мельник Н. А.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ СВИНЦА НА НЕПОВРЕЖДЕННУЮ КОЖУ

Государственное учреждение «Институт медицины труда Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Введение. Одним из проявлений токсического действия соединений свинца на организм является развитие процессов свободнорадикального окисления липидов в крови, печени, почках, сердце, мозге. Вместе с тем остается открытым вопрос о влиянии наночастиц (НЧ) свинца на состояние систем перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты организма (АОЗ) при их нанесении на неповрежденную кожу.

Цель исследования – характеристика процессов ПОЛ и АОЗ в организме крыс при воздействии на неповрежденную кожу различных по размеру соединений свинца.

Материалы и методы исследования. На крысах воспроизводили экспериментальную модель хронической интоксикации НЧ PbS. Для этого были использованы коллоиды НЧ PbS с размером частиц 12,5 нм и 100,0 нм, стабилизированные в 1,0 и 0,5 % водных растворах желатина, также были использованы водный раствор ацетата свинца (АС) со средним размером частиц 700,0 нм. Перед проведением аппликаций 1 мл основного раствора коллоида разводили 5-кратным объемом деионизированной воды, после чего на кожу животных площадью 2 см² наносили 1 см³ раствора НЧ. Активность процессов ПОЛ определяли по концентрации ТБК-активных продуктов – малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови (по методу Mihara в модификации Е. Н. Коробейниковой), а характеристику процессов, направленных на АОЗ по показателям активности ферментов каталазы (КТ, КФ 1.11.1.6) по методу (М. А. Королюк) и супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.1.15.1.) по методу, описанному (Е. Е. Дубинина) в эритроцитах.

Результаты. Проведенные исследования показали, что НЧ PbS размером 12,5 нм и 100,0 нм способны вызвать в организме крыс нарушения в системе ПОЛ и АОЗ организма. На что указывает статистически значимое ($p_u < 0,05$) по сравнению с контролем увеличение показателя концентрации МДА в сыворотке крови подопытных крыс и угнетение активности ферментов КТ и СОД в эритроцитах. По характеру изменений биохимических показателей НЧ PbS размером 12,5 нм и 100,0 нм по сравнению с АС проявляют более выраженный эффект токсического действия.

Выводы. Влияние неорганических соединений свинца, представленных частицами микро- и нанометрового диапазона, путем их длительного (3 мес.) нанесения на неповрежденную кожу крыс сопровождается развитием оксидативного стресса в организме животных.

Ключевые слова: кожа крыс, наночастицы свинца, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система

Melnyk N. A.

CHARACTERISTICS OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN RATS, EXPOSED TO MICRO- AND NANOPARTICLES OF NONORGANIC LEAD COMPOUNDS THROUGH THE UNDAMAGED SKIN

State Institution «Institute for Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Introduction. One of the first manifestations of the toxic effect of lead compounds on the body is development of processes of free radical lipid peroxidation (LP) in blood, liver, kidneys, heart, brain. At the same time a problem on the effect of lead nanoparticles (NP) on the state of the system of lipid peroxidation and on antioxidant defense (AOD) of the body in their application onto the damaged skin remains to be open.

Purpose of the study. Characterization of processes of LP and AOD in rats, exposed to lead of different size through the undamaged skin.

Materials and methods. An experimental model on chronic intoxication with NP of PbS was tested on rats. For this purpose there have been used colloids of NP of PbS, sized 12,5 nm and 100,0 nm, stabilized in 1,0 % and 0,5 % of gelatin water solutions. Also, a water solution of lead acetate (LA) with NP, sized 700,0 nm, was used. 1 ml of the main colloid solution was diluted with 5-fold volume of the deionized water before the application, then the skin of animals of 2 sm² square, was covered with 1 cm³ of NP solution. The activity of LP was defined by the concentration of TBC-active products – malondialdehyde (MDA) in blood serum (by Mihara method, modified by E.N. Korobeinikova and the characteristics of processes, directed at the antioxidant defense of the body by indices of the catalase enzyme activity (CT, Class 1.11.1.6) by M.A. Korolyuk method and superoxide dismutase (SOD, Class 1.1.15.1) by the method, described by E.E. Dubinina, in erythrocytes.

Results. The above mentioned studies show that NP of PbS, sized 12,5 nm and 100,0 nm, are capable to induce disorders in LP system and in AOD in rats. This is seen from statistical significant increase ($p < 0,05$) in blood serum of the examined rats in comparison with the control, in the index of MAS concentration and in inhibition of the activity of CT and SOD enzymes in erythrocytes. Nanoparticles of PbS, sized 12,5 and 100,0 nm, by the character of biochemical changes, manifest more expressed toxic effect in comparison with lead acetate.

Conclusion. The effect of nonorganic lead compounds, presented by particles of macro- and nanometric range, of 3 months duration in their application on the undamaged skin is accompanied by development of oxidative stress in rats.

Key words: rat's skin, lead nanoparticles, peroxide oxidation of lipids, antioxidant system

References

1. Dmytrukha, N. M., Lugovskyi, S. P., Lagutina, O. S. 2014, «Characteristics of immunotoxic effect of lead compounds with micro- and nanoparticles», Modern problems of toxicology, food and chemical safety, no. 1–2, pp. 59–66 (in Ukrainian).
2. Belenichev, I. F., Levitskyi, E. L., Gubskyi, Yu. I. et al. 2002, «Antioxidant system of body defense (a review)», Modern problem of toxicology, no. 3, pp. 24–31 (in Ukrainian).
3. Wickens, A. P. 2001, «Ageing and the free radical theory», Respir. Physiol., v. 128, no. 3, pp. 379–391.
4. Stezhka, V. A., Melnik, Yu. P. 2003, «State of free radical oxidative homeostasis in man exposed to lead compounds», Modern problems of toxicology, no. 2, pp. 50–54 (in Russian).
5. Sandhir, R., Gill, K. D. 1995, «Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats», Biol. Trace Elem. Res., v. 48, pp. 77–85.
6. Adonaylo, V. N. 1999, «Lead intoxication antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain», Toxicology, v. 135, pp. 77–85.
7. Correa, M., Miquel, M., Sanchis-Segura, C., Aragon, C. M. 1999, «Effects of chronic lead administration on ethanol-induced locomotor and brain catalase activity», Alcohol, v. 19, pp. 43–49.
8. Kozhemiakin, Yu. M., Khromov, O. S., Filonenko, M. A., Saifetdinova, G. A. 2002, Scientific and practical recommendations on maintenance of laboratory animals and work with them. Kyiv : Avicenna, 156 p. (in Ukrainian).
9. European Convention for the protection of vertebrate animal, used for experimental and other scientific purposes, Council of Europe, Strasburg, 1986, 53 p.
10. Korobeinikova, E. N. 1989, «Modification on determining of products of lipid peroxidation in the reaction with thiobarbituric acid», Lab. Delo, no. 7, pp. C. 8–9 (in Russian).
11. Korolyuk, M. A., Ivanova, L. I., Maiorova, I. G., Tokarev, V. E. 1988, «A method of defining catalase activity», Lab. Delo, no. 1, pp. 16–18 (in Russian).
12. Dubinina, E. E., Salnikova, A. Ya., Yefimova, L. F. 1983, «Activity and isoenzyme spectrum of superoxide dismutase in human erythrocyte and plasma», Lab. Delo, no. 10, pp. 30–33 (in Russian).
13. Trakhtenberg, I. M., Korolenko, T. K., Utko, N. A. 2001, Lead and oxidative stress, Modern problems of toxicology, no. 4, pp. 50–53 (in Russian).
14. Pershim, O. I. 2014, Oxidative stress in the pathogenesis of lead acetate effect, World of medicine and biology, no. 1, pp. 142–146 (in Russian).
15. Paton, B., Moskalenko, V., Chekman, I., Movchan, I. 2009, «Nanoscience and nanotechnologies: technical, medical and social aspects», Visnyk of NAS of Ukraine, no. 6, pp. 18–26 (in Ukrainian).

Надійшла: 8 вересня 2016 р.

Контактна особа: Мельник Н. А., ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 44 284 34 27. Електронна пошта: melnyknataliia90@gmail.com