

НАНОТЕХНОЛОГІЇ

© В. І. Гарець

УДК 611. 12-034:591. 33-092. 9

В. І. Гарець

МОДЕЛЮВАННЯ ВПЛИВУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА НАНОМЕТАЛІВ НА ОРГАНІЗМ І ЕМБРІОГЕНЕЗ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія»

(м. Дніпропетровськ)

Дане дослідження є фрагментом міжкафедральної планової наукової роботи Державного закладу «Дніпропетровська медична академія» «Розвиток та морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в нормі, в онтогенезі, під впливом зовнішніх чинників», № державної реєстрації 0111U012193.

Вступ. Для промислових областей України особливо актуальна проблема забруднення важкими металами, при цьому пріоритетним токсикантом є свинець та його солі. Незважаючи на відповідність змісту свинцю в харчових продуктах гігієнічним нормативам, рівень сумарного добового надходження (за даними ВООЗ) знаходиться на рівні верхньої межі допустимого добового споживання. Найбільш актуальною є проблема свинцевого забруднення внутрішнього середовища організму, оскільки внаслідок його здатності до кумуляції навіть вплив на рівні малих концентрацій приводить до значного порушення роботи організму. Свинцева інтоксикація веде до підвищення ембріональної смертності, виникнення різних аномалій розвитку скелета та інших органів і систем організму. При надлишку свинцю в організмі відзначається погіршення якості сперми, підвищення ризику бездітності, збільшення ризику спонтанних абортів та інших ускладнень вагітності та пологів [14, 15, 16].

Теорії, що зв'язують розвиток багатьох хвороб з дефіцитом макро- і мікроелементів, відносяться до найсучасніших наукових розробок [2]. Дослідження учених підтверджують виключно важливу роль мікроелементів в здоров'ї людини. Вони відіграють значну роль у формуванні та побудові тканин організму, особливо кісток скелета, підтримують кислотно-лужну рівновагу в організмі, осмотичний тиск клітинних і позаклітинних рідин, визначають стан водно-сольового обміну, згортання крові, беруть участь у м'язовому скороченні, створюють необхідні умови для нормального перебігу процесів обміну речовин і енергії [2, 6, 7, 8]. Швидкий розвиток новітніх нанотехнологій – технологій направленої отримання та використання речовин і матеріалів в діапазоні розмірів менше 100 нанометрів, з одної сторони відкриває широкі перспективи в отриманні

матеріалів з принципово новими корисними властивостями для використання в усіх сферах діяльності людини, з іншої – викликає велике занепокоєння в зв'язку з потенційним ризиком наноматеріалів і, насамперед, нанометалів для здоров'я людини та оточуючого середовища. Унікальні властивості наноматеріалів роблять їх дуже привабливими для фармацевтичної промисловості, сільського господарства, технічної промисловості. Таким чином, вже досить велика кількість наноматеріалів та нанометалів попадає до екологічних систем навколишнього середовища [11, 12, 13].

Серед усього різноманіття існуючих наночастинок металів особливої уваги заслуговують наночастинки цинку, золота, заліза та срібла. Такий значний інтерес викликаний перспективністю використання наночастинок золота у технологіях конструювання високоефективних засобів діагностики та цільової терапії, зокрема онкологічних захворювань та загальновідомих антибактеріальних властивостей срібла [10, 18, 19]. Проводяться активні розробки серед фармакологів щодо можливого використання нанозаліза як протианемічного засобу [11, 12, 13]. Інформація про безпечність та потенційний ризик наноматеріалів вкрай потрібна як для забезпечення здоров'я дорослої людини так і для організму, що розвивається. На жаль, досить активні дослідження з впливу наноматеріалів на організм [3, 4, 5, 6] майже не торкаються досліджень з виявлення ступеню ембріотоксичності і можливої тератогенності нанопродуктів.

Зростає частка наукових морфологічних досліджень з впливу наночастинок на об'єкти біології та людину. Увага дослідників головним чином зосереджена на вивченні біологічних ефектів впливу нанометалів на клітинному рівні [1, 6, 8, 9, 10]. Однак, незважаючи на інтенсивні дослідження останніх років, відомості щодо ефектів впливу наночастинок металу на організм та на ембріон є досить обмеженими і суперечливими, тому експериментальні роботи з зазначеного напрямку актуальні сьогодні як ніколи.

Мета дослідження – розробити експериментальну модель впливу сполуками свинцю та сполуками свинцю в комбінації з нанометалами для

виявлення можливого впливу на організм та загальний хід ембріогенезу.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом експериментального дослідження було обрано щурів. Перед початком експерименту всі тварини були оглянуті, зважені, враховувався їхній вік, рухова активність та стан шкіри. Під час спостереження лабораторні тварини утримувались в звичайних умовах віварію ДЗ «ДМА». Годування, пиття, пересаджування тварин, зміна підстилки, миття кліток, прибирання приміщень проводилось з дотриманням стандартних умов, описаних в рекомендаціях. Дослідження на тваринах проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджуються з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин (Страсбург, 1985).

В експериментальних моделях використовували розчини цитрату срібла, золота, отриманих за аквананотехнологією. Цитрати біометалів безпечні, більше того, вони проявляють антиоксидантну і радіопротекторну дію, позитивно впливають на серцево – судинну і імунну системи організму. Сучасними дослідниками України (Інститут нанобіотехнологій України та ресурсосбереження) розроблено методи синтезу цитратів натрію, калію, кальцію, магнію, цинка, заліза, золота, срібла та інших металів [8, 9].

Експериментальна частина роботи виконана на 42 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар вагою 180-200 грам у віці 95-110 днів. Щури – поліестрічні тварини з тривалістю естрального циклу 4-5 днів і спонтанним типом овуляції. В експериментальних моделях використовували розчини ацетату свинцю та цитрату срібла, золота, отриманих за аквананотехнологією.

Моделювання впливу розчинів нанометалів на організм самиці та на ембріогенез у щурів проводили за наступним планом.

Всі щури були розділені на 4 групи: 1 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг; 2 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг та розчин нанозолота у дозі 1,5 мкг/кг; 3 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг та розчин наносрібла у дозі 2мкг/кг; 4 група – контрольна. Згідно загальноприйнятим інструкціям проведення експериментальних робіт, розчини металів та нанометалів вводили самицям через зонд один раз на добу, в один і той же час, з 1 по 19 день вагітності (на 20-й день вагітності проводили оперативний забій). Дослідних тварин виводили з експерименту способом передозування ефірного наркозу

після вилучення матки з ембріонами. Щури вилучали з матки, перевіряли на тест живі-загиблі, зважували, визначали стать, фотографували та фіксували у 10% розчині формаліну для подальшого гістологічного дослідження. Також досліджувалися органи самої самиці: серце, матка, яєчники, печінка, нирки, селезінка, стегнова кістка, головний мозок. Після фіксації вилучені органи самиці та ембріонів фіксували для подальшого мікроскопічного дослідження.

Результати досліджень та їх обговорення. На початку дослідження отримували самиць з фіксованим терміном вагітності. Для точного визначення дати вагітності самиць визначали стадії естрального циклу шляхом вивчення вагінального мазка. Вагінальні мазки отримували стандартним способом та досліджували під мікроскопом незабарвленими та нефікованими. Першим днем вагітності вважали день виявлення сперматозоїдів в вагінальному

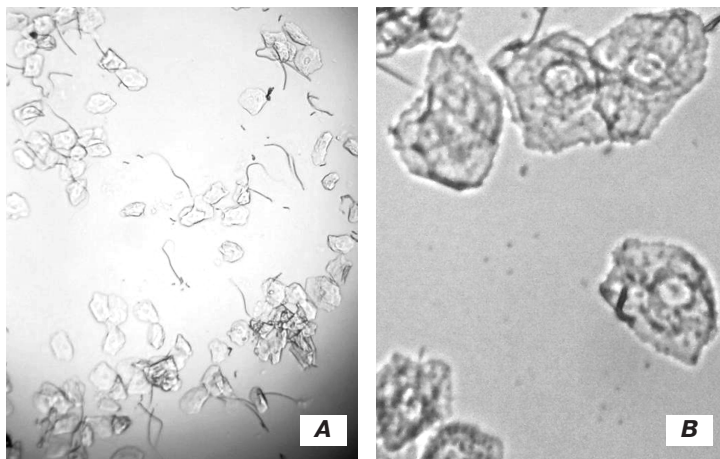


Рис. 1. Мікрофотографія незабарвленого нефікованого вагінального мазка самиці щура А – естральні клітини в мазках самиці. 36. 7х8. В – ядерні та без'ядерні естральні клітини на великому збільшенні. 36. 7х40.

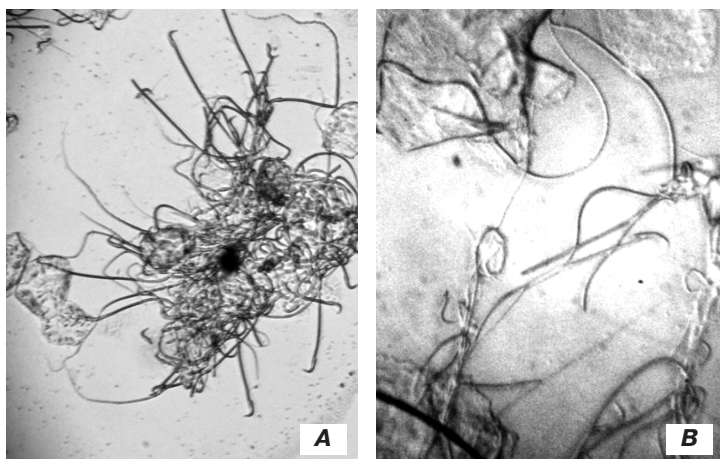


Рис. 2. Мікрофотографія незабарвленого нефікованого вагінального мазка самиці щура для визначення першого дня вагітності. Добре помітні естральні клітини та сперматозоїди. А. 36. 7х8. В – сперматозоїди та естральні клітини на великому збільшенні. 36. 7х40.

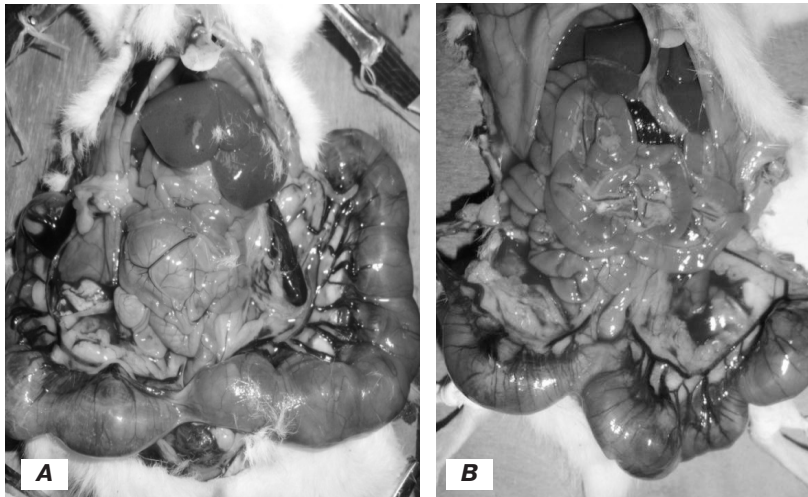


Рис. 3. Фотографія двороздільної матки вагітної самиці щура контрольної (А) та експериментальної (В) групи (вплив ацетатом свинцю) під час оперування. Виділяються маткові судини, що утворюють аркади в брижах маткових труб. Кількість ембріонів в маткових рогах експериментальної групи ацетату свинцю виразно зменшена.

мазку (рис. 1). Щури – поліестричні тварини. У період статевого спокою в піхві самиці переважають дрібні клітини – лейкоцити – стадія естрального циклу щура – дієструс. Передтічкова стадія характеризується різким зменшенням числа лейкоцитів, появою овальних клітин з ядрами і великих ороговілих естральних лусочок – без'ядерних клітин – стадія про еструс. В цій стадії присутні у мазках також і незначна кількість клітин, що містять ядра. Як тільки у мазку під мікроскопом виявляються естральні лусочки різної форми, що нагадують розбиті крижинки – визначали стадію – еструс (рис. 1). На цій стадії астрального циклу самиця здатна до запліднення. Саме в цей період відбувається запліднення, яке і визначалось по наявності сперматозоїдів в піхві самиці (рис. 2).

На 19 добі вагітності проводили операції з вилучення ембріонів з матки для подальшого дослідження. Під час проведення операції вагітних самок, уважно оглядали внутрішні органи, матку, судини, яєчники. Визначали кількість ембріонів в кожному відділі двороздільної матки і заносили дані до протоколу. В цей час визначали постімплантаційну смертність по різниці між кількістю місць імплантації і кількістю живих плодів. Місця імплантації добре помітні неозброєним оком – плацента темного кольору і виглядає як виступ стінки матки. Тест живі-мертві ембріонів проводили відразу після вилучення з матки: доторкання голкою до ембріона у живих викликає рефлекторні рухи (рис. 3).

Після вилучення ембріонів з матки, виділяли яєчники самиці. Яєчники спочатку відпрепарували від клітчатки, оглядали з метою виявлення можливих

макроскопічних патоморфологічних змін, визначали розміри, вагу, кількість жовтих тіл (рис. 4). Вагу визначали шляхом важення на торсійних вагах ВТ-500. В цей час проводили підрахування передімплантаційної смертності, яку визначали за різницею між кількістю жовтих тіл в яєчниках і кількістю місць імплантації в матці. Жовті тіла в яєчниках щурів добре помітні в біокулярну лупу під невеликим збільшенням, що дозволяє провести кількісний аналіз під час проведення операції.

Окремо досліджували вилучених ембріонів. Нашою задачею було визначення можливої ембріотоксичної дії досліджуваних препаратів. Ембріотоксичність може проявлятися як у підвищенні рівня ембріональної смертності

(ембріолетальна дія), так і у вигляді анатомічних, гістологічних, цитологічних, біохімічних, фізіологічних відхилень від норми, що виявляються до або після народження (тератогенна дія). Крім того, ембріо-і фетотоксичність може проявлятися у зміні маси тіла, краніокаудального розміру плодів, затримці осифікації скелету (загальна затримка розвитку), збільшенні перинатальної смертності. Для визначення можливої ембріотоксичної дії, вилучені з матки ембріони разом з плацентою, оглядали з метою виявлення видимих патоморфологічних змін, проводили фотографування, зважували, визначали краніокаудальний розмір.

Порівняння результатів ембріотропної дії низьких доз свинцю з показниками контрольної групи виявило його ембріотоксичність. Так, при практично однаковій кількості жовтих тіл вагітності спостерігається достовірне зниження кількості живих плодів

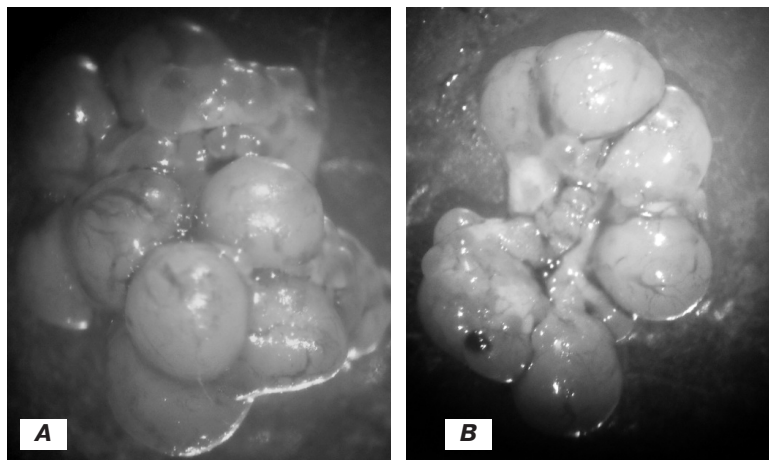


Рис. 4. Мікрофотографія правого (А) та лівого (В) незабарвленого нефіксованого яєчника вагітної самиці щура контрольної групи. Добре помітні жовті тіла (великого діаметру) та незрілі фолікули (малого діаметру). А. 36. 7x8.

на 17% – $7,5 \pm 0,53$ проти $9,0 \pm 0,4$ контрольної групи відповідно. В експериментальних групах з використанням ацетату свинцю в комбінації з нанометалами визначалося зменшення токсичної дії свинцю на ембріогенез, а саме: збільшення кількості ембріонів, кількості жовтих тіл та доімплантаційної смертності, що свідчить на користь позитивної дії останніх на організм при використанні зазначеної експериментальної моделі.

Висновок. Таким чином, розроблена експериментальна модель дії сполук свинцю та сполук свинцю в комбінації з нанометалами виявила вплив на організм та загальний хід ембріогенезу дослідних

тварин. Результати використання зазначеної експериментальної моделі вказали, що при комбінованому введенні низьких доз свинцю + наносрібло та свинцю+ нанозолото спостерігається збільшення кількості жовтих тіл вагітності, кількості живих плодів, що обумовлено зниженням загальної та доімплантаційної ембріональної смертності порівняно з групою зі свинцевою інтоксикацією при практично однаковій масі плодів.

В перспективі подальших досліджень є вивчення гістологічних препаратів ембріонального матеріалу, отриманого при використанні представленої експериментальної моделі.

Література

1. Артисюк М. В. Цитотоксична активність наносрібла щодо культури клітин CHO K1 / М. В. Артисюк // Український науково-медичний молодіжний журнал «YouthNanoBioTech-2010. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» Матеріали конференції 19 травня 2010р., Київ. – №3. – С. 20-21.
2. Борисевич В. Б. Нанотехнології мікронутрієнтів: проблеми, перспективи та шляхи ліквідації дефіциту макро- та мікроелементів / В. Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, М. В. Косінов // Журнал АМН України. – 2010. – № 1. – С. 107-114.
3. Картель М. Т. Концепція методології ідентифікації та токсикологічних досліджень наноматеріалів і оцінки ризику для людського організму та довкілля при їх виробництві і застосуванні / М. Т. Картель, В. П. Терещенко // Химия, физика и технология поверхности : Межвед. сб. науч. труд. – К. : Наукова Думка, 2008. – Вып. 14. – С. 565-583.
4. Колесниченко А. В. Токсичность наноматериалов – 15 лет исследований / А. В. Колесниченко, М. А. Тимофеев, М. В. Протопопова // Российские нанотехнологии. – 2008. – Т. 3, № 3-4. – С. 54-61.
5. Лавриненко В. Є. Тератогенні ефекти різних класів наноматеріалів / В. Є. Лавриненко, С. С. Зінабадінова // Укр. наук.-мед. молодіжний журнал. – 2010. – № 3 (Спец. вип.). – С. 57-58.
6. Мосин О. В. Физиологическое воздействие наночастиц меди на организм человека / О. В. Мосин // NanoWeek. – 2008. – №22. – Р. 86-94.
7. Москаленко В. Ф. Нанонаука, нанобіотехнології, наномедицина, нанофармакологія / В. Ф. Москаленко, І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, Т. І. Небесна // Український науково-медичний молодіжний журнал «YouthNanoBioTech-2010. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» Матеріали конференції 19 травня 2010р., Київ. – №3. – С. 9-16.
8. Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії. Посіб. для студ. аграрн. закл. Освіти III-IV рівнів акредитації / [В. Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, М. В. Косінов, Б. В. Борисевич та ін]; за ред. В. Б. Борисевича, В. Г. Каплуненко. – К. : ВД «Авіцена», 2010. – 416 с.
9. Петренко О. Ф. Рекомендації щодо застосування наночасток Ag, Cu, Zn для лікування ран у собак та для профілактики гельмінтозів тварин / [О. Ф. Петренко, В. Б. Борисевич, О. О. Петренко, К. Г. Лопатько та ін.]. – К. : НУБіП України, 2009. – 40 с.
10. Рєзніченко Л. С. Вплив металів-мікроелементів на функціональний стан бактерій-пробіотів / Л. С. Рєзніченко, Т. Г. Грузіна, В. В. Вембер, З. Р. Ульберг // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, №1. – С. 96–101.
11. Сердюк А. М. Нанотехнології мікронутрієнтів: питання безпечності та біотичності наноматеріалів при виробництві харчових продуктів / А. М. Сердюк, М. П. Гулич, В. Г. Каплуненко, М. В. Косінов. // Журнал Академії медичних наук України. – 2010. – №3, Т. 16. – С. 467-471.
12. Сердюк А. М. Перспективы использования достижений нанотехнологии для решения проблемы дефицита микроэлементов в питании населения / А. М. Сердюк, М. П. Гулич, В. Г. Каплуненко, Н. В. Косинов / Сб. Матеріали VI Міжнар. наук. -практ. конф. «Актуальні питання та організаційно-правові засади співробітництва України та КНР у сфері високіх технологій» (Київ, 2 червня 2009 р.). – К., 2009. – С. 135-140.
13. Сердюк А. М. Управление риском для применений нанотехнологий в продуктах питания и косметических средствах / А. М. Сердюк, М. П. Гулич, В. Г. Каплуненко, М. В. Косинов / Сб. : Проблемы окружающей среды и природных ресурсов. Обзорная информация. Москва, 2009. – Вып. 5. – 2009. – С. 3-79.
14. Свинец и его действия на организм (обзор литературы) / А. И. Корбакова, Н. С. Соркина, Н. Н. Молодкина [и др.] // Медицина труда и пром. экол. – 2001. – № 5. – С. 29-34.
15. Трахтенберг И. М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды / И. М. Трахтенберг // Довкілля та здоров'я. – 1997. – № 2. – С. 48-51.
16. Чекман І. С. Нанофармакологія / І. С. Чекман. – К. : Задруга, 2011. – 424 с.
17. Braydich-Stolle L. Cytotoxicity of nanoparticles of silver in mammalian cells / L. Braydich-Stolle, S. Hussain, J. Schlager // Toxicological Sciences, 2005. – 380 p.
18. Broad-Spectrum Bactericidal Activity of Ag₂O-Doped Bioactive Glass / Maria Bellantone, Huw D. Williams, Larry L. Hench // J. Antimicrobial. Agents and Chemotherapy. – 2002. – Vol. 46, №. 6. – P. 1940-1945.
19. Oberdorster G. . Principles for Characterizing the Potential Human Health Effects From Exposure to Nanomaterials: Elements of a Screening Strategy / G. Oberdorster, A. Maynard, K. Donaldson [et al.] // Particle and Fibre Toxicology. – 2005. – Vol. 2, № 8. – P. 235-246.

УДК 611. 12-034:591. 33-092. 9

МОДЕЛЮВАННЯ ВПЛИВУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА НАНОМЕТАЛІВ НА ОРГАНІЗМ І ЕМБРІОГЕНЕЗ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Гарець В. І.

Резюме. Метою дослідження було: розробити експериментальну модель впливу ацетату свинцю та ацетату свинцю в комбінації з нанометалами для виявлення можливого впливу на організм та загальний хід ембріогенезу.

Моделювання проводили за наступним планом. Всі щури були розділені на 4 групи: 1 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю; 2 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю + розчин нанозолота; 3 група – тварини, яким вводили ацетат свинцю + розчин наносрібла; 4 група – контрольна. Експеримент підтвердив ембріотоксичність низьких доз свинцю. Результати використання зазначеної експериментальної моделі вказали, що при комбінованому введенні низьких доз свинцю + наносрібло та свинцю + нанозолото спостерігається збільшення кількості жовтих тіл вагітності, кількості живих плодів.

Ключові слова: нанозолото, наносрібло, ембріогенез, ацетат свинцю.

УДК 611. 12-034:591. 33-092. 9

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И НАНОМЕТАЛЛОВ НА ОРГАНИЗМ И ЭМБРИОГЕНЕЗ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гарець В. И.

Резюме. Целью исследования было: разработать экспериментальную модель влияния ацетата свинца и ацетата свинца в комбинации с нанометаллами для выявления возможного влияния на организм и общий ход эмбриогенеза.

Моделирование проводили по следующему плану. Все крысы были разделены на 4 группы: 1 группа – животные, которым вводили раствор ацетата свинца, 2 группа – животные, которым вводили раствор ацетата свинца + раствор нанозолота, 3 группа – животные, которым вводили ацетат свинца + раствор наносеребра, 4 группа – контрольная. Эксперимент подтвердил эмбриотоксичность низких доз свинца. Результаты использования экспериментальной модели указали, что при комбинированном введении низких доз свинца + наносеребра и свинца + нанозолота наблюдается увеличение количества желтых тел беременности, количества живых плодов.

Ключевые слова: нанозолото, наносеребро, эмбриогенез, ацетат свинца.

UDC 611. 12-034:591. 33-092. 9

Modelling the Impact of Heavy Metals and Nanometals on the Organism and Embryogenesis in the Experiment

V. I. Garets

Summary. The aim of research was develop an experimental model of the effect of lead acetate and lead acetate in combination with nanometals for possible effects on the body and the general course of embryogenesis. Modeling was performed on the following plan. All the rats were divided into 4 groups: group 1 – animals treated with a solution of lead acetate, group 2 – animals treated with a solution of lead acetate + nanogold solution, 3 group – animals injected with a solution of lead acetate + nanosilver, group 4 – control .

The experiment confirmed embryotoxicity of low doses of lead. The results of an experimental model indicated that the combined injection of low doses of lead + lead and nanosilver + nanogold increase the number of corpora lutea of pregnancy and quantity of live fetuses.

Key words: nanogold, nanosilver, embryogenesis, lead acetate.

Стаття надійшла 3. 03. 2013 р.

Рецензент – проф. Костенко В. О.