

ВМІСТ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ В ПЕЧІНЦІ ТА СІМ'ЯНИКАХ ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

В. Я. Сирватка

Інститут біології тварин НААН

У статті наведено дані експериментальних досліджень щодо вмісту різних фракцій нуклеїнових кислот в сім'яниках та печінці щурів при парентеральному введенні наночастинок срібла розміром 10–12 нм у дозі 1 та 0,5 мг/кг/день. Встановлено зростання концентрації рН 7 фракції клітинних ядер, яка містить рРНК та тРНК, в сім'яниках щурів першої дослідної групи, яким вводили 1мг/кг/день наночастинок срібла. Однак, у тканинах печінки не виявлено змін у співвідношенні різних фракцій нуклеїнових кислот. Для більш повної оцінки збільшення синтезу нуклеїнових кислот в даному дослідженні, необхідно в подальшому визначити експресію генів, що запускаються в сім'яниках при введенні наночастинок срібла.

Ключові слова: НАНОЧАСТИНКИ СРІБЛА, ДНК, РНК, ЩУРИ, СПЕРМАТОГЕНЕЗ

Наночастинок срібла є найбільш поширеними серед усіх комерційно доступних продуктів нанотехнології [1]. Завдяки своїй антимікробній дії щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також деяких вірусів та грибків, вони знайшли широке застосування у медицині, ветеринарії та повсякденному житті людей [2–4]. Однак, незважаючи на широке застосування наночастинок срібла, вивчення їх впливу на здоров'я тварин залишається на початковому рівні. Токсикологічні роботи проведені на щурах показали, що ін'єкції наночастинок срібла призводять до накопичення його у внутрішніх органах: печінці, нирках, селезінці, серці [5]. Також відомо, що вони здатні викликати зменшення кількості первинних фолікулів в яєчниках [6], проте вплив їх на метаболічні процеси у сім'яниках та печінці, процеси сперматогенезу досі залишаються не вивченими.

Метою даного дослідження була оцінка біосинтетичної активності тканин сім'яників та печінки щурів під впливом внутрішньом'язових ін'єкцій наночастинок срібла розміром 10–12 нм у дозі 1 мг/кг/день та 0,5 мг/кг/день.

Матеріали і методи

Дослід був проведений на 15 статевозрілих щурах лінії Вістар, віком 6 місяців та живою масою 314 ± 13 г. Тварин поділили на три групи: контрольну та дві дослідні по 5 щурів у кожній. Тваринам першої та другої дослідних груп внутрішньом'язово щодня впродовж тижня вводили наночастинок срібла синтезовані, шляхом хімічної редукції водного розчину нітрату срібла та стабілізовані полівінілпіролідом з розрахунку 1 та 0,5 мг/кг/день відповідно в 5 % розчині глюкози. Щури контрольної групи в якості плацебо отримували 5 % розчин глюкози. Через 7 днів після введення препаратів проводили евтаназію всіх тварин шляхом передозування ефірним наркозом. Відбирали зразки сім'яників та печінки для визначення різних фракцій РНК та ДНК в ядрах, рибосомах та мітохондріях. Для дослідження отримували субклітинні фракції: ядер, рибосом та мітохондрій методом диференційного центрифугування, в яких визначали концентрацію ДНК та різних фракцій РНК [7]. Отримані дані обробляли статистично.

Результати й обговорення

При вивченні синтетичних процесів провели визначення концентрації різних фракцій РНК та ДНК у тканинах печінки та сім'яниках щурів. Результати кількісного вмісту нуклеїнових кислот в печінці щурів за умов впливу наночастинок срібла наведені на рисунку 1. Аналіз даних не показав вірогідної різниці між контрольною та дослідними групами в концентрації ядерної рН 7, рН 8 та залишкової фракції РНК, мітохондріальної та рибосомальної РНК а також ядерної та мітохондріальної ДНК.

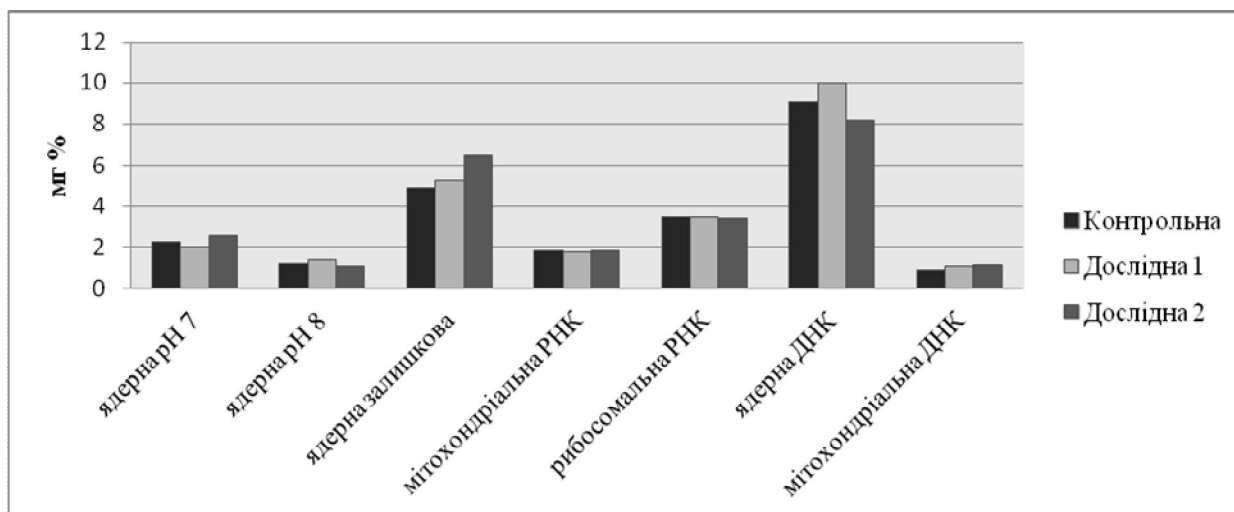


Рис. 1. Кількісний вміст фракцій нуклеїнових кислот в печінці щурів за умов введення наночастинок срібла, ($M \pm m$, $n=4-5$), * — $P < 0,05$; достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою (t-тест Студента)

Одержані результати вказують на те, що внутрішньом'язове введення наночастинок не викликає змін в синтетичних процесах тканин печінки.

Результати кількісного вмісту нуклеїнових кислот в сім'яниках щурів за умов впливу наночастинок срібла наведені на рисунку 2. Встановлено, що введення наночастинок срібла в концентраціях 1 мг/кг/день призводить до зростання ($P < 0,05$) концентрації рН 7 фракції клітинних ядер, яка містить рРНК та тРНК, у сім'яниках щурів першої та другої дослідних груп і тенденцію до зростання фракції залишкових ядерних РНК у тварин другої дослідної групи. Також виявили тенденцію до зростання загальної кількості ядерної ДНК у сім'яниках дослідних тварин, яким вводили наночастинок срібла. Отримані дані вказують на активацію синтезу білків під впливом наночастинок срібла.

Однак, у дослідях *in vitro* було показано цитотоксичний ефект наночастинок срібла щодо сперматогоніальних стовбурових клітин [8]. В експериментах на клітинах людської гепатоми (Huh-7) встановлено зниження концентрації ДНК на 15 %, що є результатом індукції процесів апоптозу наночастинок срібла. Ці дані підтверджувалися *in vivo* дослідженнями на мишах яким вживали наночастинок срібла де аналіз РНК зразків печінки показав експресію генів які відповідають за запальні процеси та процеси апоптозу [9].

Збільшення синтезу РНК у сім'яниках може бути спричинене порушеннями процесів сперматогенезу, однак характер та механізми, які лежать в основі цих змін, важко зрозуміти. Можливо, причиною є синтез відповідних стресорних білків. У дослідженні на мишах, яким орально вводили аналогічні дози наночастинок срібла, показано збільшення експресії цитокінів IL-1, IL-6, IL-4, IL-10, IL-12, трансформуючого фактору росту β та імуноглобуліну Е, що вказувало на розвиток запального процесу у тварин [10]. Тому для

більш повної оцінки збільшення синтезу нуклеїнових кислот в даному дослідженні, необхідно в подальшому визначити експресію генів, що запускаються в сім'яниках при введенні наночастинок срібла.

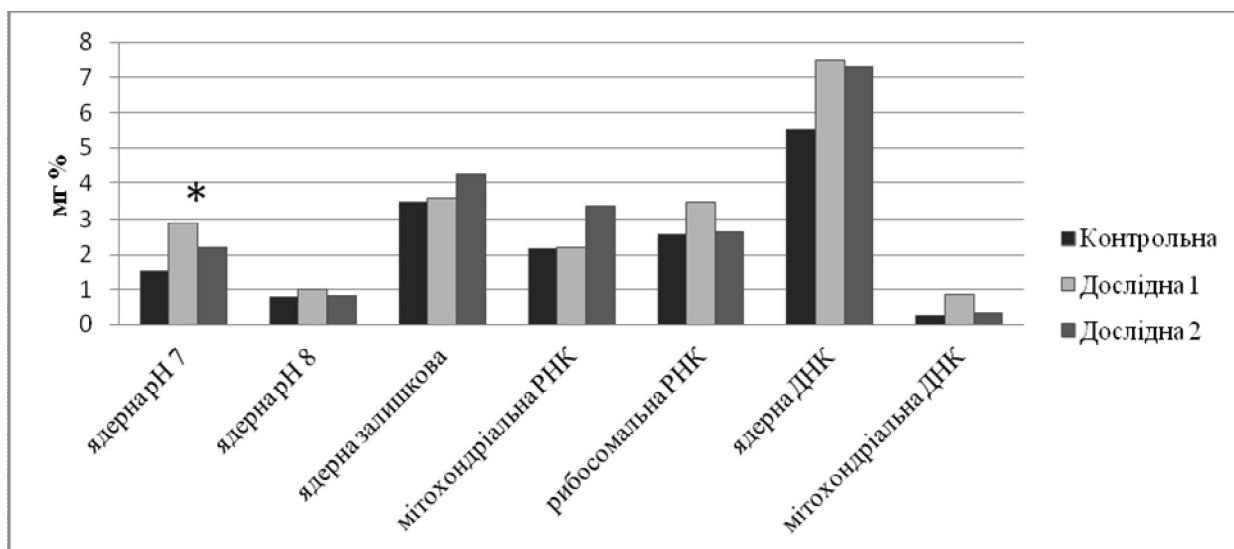


Рис. 2. Кількісний вміст фракцій нуклеїнових кислот в сім'яниках щурів за умов введення наночастинок срібла, ($M \pm m$, $n=4-5$), * — $P < 0,05$; достовірна різниця в порівнянні з контрольною групою (t-тест Студента)

Висновки

Введення наночастинок срібла, розміром 10–12 нм у концентраціях 1 та 0,5 мг/кг/день щурам у 5 % розчині глюкози призводить до зростання в сім'яниках щурів концентрації рН 7 фракції РНК клітинних ядер, яка містить рРНК та тРНК і не викликає суттєвих змін у вмісті нуклеїнових кислот у тканинах печінки.

Перспективи подальших досліджень. Антимікробні властивості наночастинок срібла відкривають широкі перспективи для їх застосування в різних галузях медицини та ветеринарії тому подальше вивчення механізмів їх впливу на метаболічні процеси у тварин, зокрема, на репродуктивну функцію має важливе теоретичне та практичне значення.

V. J. Syrvatka

NUCLEIC ACID CONTENT IN RATS LIVER AND TESTICLES AFTER TREATMENT OF SILVER NANOPARTICLES

S u m m a r y

This study presented the information about the influence of parenteral injections of silver nanoparticles (size 10–12 nm) at dose 0,5 and 1 mg/kg/day on different fraction of nucleic acid content in rat's testicles and liver. Our results demonstrate the increase in the concentration of pH 7 fraction RNA (rRNA and tRNA) of cell's nucleus, in 1 group of rat's testicles. However silver nanoparticles treatment did not influenced on nucleic acid content in liver. For complete assess the biological influence of silver nanoparticles on increase in the synthesis of nucleic acids in this study need to determine the expression of genes in the testis.

СОДЕРЖАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ПЕЧЕНИ И СЕМЕННИКАХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

А н н о т а ц и я

В статье приведены данные экспериментальных исследований по содержанию различных фракций нуклеиновых кислот в семенниках и печени крыс при парэнтеральном введении наночастиц серебра размером 10–12 нм в дозе 0,5 и 1 мг/кг/день. Установлено повышение концентрации рН 7 фракции клеточных ядер, содержащей рРНК и тРНК, в семенниках крыс первой опытной группы, которым вводили 1мг/кг/день наночастиц серебра. Однако, в тканях печени изменений в соотношении различных фракций нуклеиновых кислот не обнаружено. Для более полной оценки увеличения синтеза нуклеиновых кислот в данном исследовании, необходимо в дальнейшем определить экспрессию генов, запускаемых в семенниках при введении наночастиц серебра.

1. *Song H. Y.* Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms / H. Y. Song, K. K. Ko, I. H. Oh, B. T. Lee // *European Cells and Materials*. — 2006. — Vol. 11, Suppl. 1. — P. 58.
2. *Kim J. S.* Antimicrobial effects of silver nanoparticles / J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu et al. // *Nanomedicine*. — 2007. — Vol. 3. — P. 95–101.
3. *Shahverdi A. R.* Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* / A. R. Shahverdi, A. Fakhimi, H. R. Shahverdi // *Nanomedicine*. — 2007. — Vol. 3. — P. 168–171.
4. *Elechiguerra J. L.* Interaction of silver nanoparticles with HIV-1 / J. L. Elechiguerra, J. L. Burt, J. R. Morones et al. // *J. Nanobiotechnology*. — 2005. — Vol. 3, No. 6.
5. *Ghorbanzadeh V.* Influence of nano-silver on primary follicles of ovary via intraperitoneal injection in rats / V. Ghorbanzadeh, S. J. Moshtaghian, S. Habibian et al. // *World J. Zool.* — 2011. — 6 (2). — P. 215–216.
6. *Park K.* Bioavailability and toxicokinetics of citrate-coated silver nanoparticles in rats / K. Park, E.-J. Park, I. K. Chun et al. // *Arch. Pharm. Res.* — 2011. — Vol 34, No 1. — P. 153–158.
7. *Fleck A.* The precision of ultraviolet absorption measurements in the Schmidt-Thannhauser procedure for nucleic acid estimation / A. Fleck, H. N. Munro // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1957. — Vol. 55, No 5. — P. 571–573.
8. *Braydich-Stolle L.* In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germ-line stem cells / L. Braydich-Stolle, S. Hussain, J. Schlager // *Toxicol. Sci.* — 2005. — 88. — P. 412–419.
9. *Cha K.* Comparison of acute responses of mice livers to short-term exposure to nano-sized or micro-sized silver particles / K. Cha, H.-W. Hong, Y.-G. Choi et al. // *Biotechnology Letters*. — 2008. — Vol. 30, No 11. — P. 1893–1899.
10. *Park E.-J.* Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles / E.-J. Park, E. Bae, J. Yi et al. // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. — 2010. — Vol. 30. — P. 162–168.

Рецензент: завідувач лабораторії живлення та біосинтезу продукції жуйних, доктор сільськогосподарських наук, с. н. с. Стапай П. В.