

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК МІДІ НА ПОКАЗНИКИ ГЕМОДИНАМІКИ КРОЛІВ У ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

Ключові слова: наночастинки міді, гемодинаміка, артеріальний тиск, безпека

Із другої половини ХХ ст. все більшої інтенсивності набувають дослідження з вивчення властивостей наноструктур та впровадження наноматеріалів у різні галузі господарства, зокрема медицину. На кафедрі фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (м. Київ) протягом останніх 15 років тривають наукові пошуки зі встановлення фармакологічних та токсикологічних ефектів наночастинок металів. Дослідження проводяться у напрямку розробки нових лікарських засобів на основі наночастинок срібла, заліза та композиту високодисперсного кремнезему з наночастинками срібла [1]. У плані продовження наукових пошуків з наномедицини та нанофармакології доцільним є вивчення протимікробної активності та безпеки наночастинок міді (НЧМ).

Відомо, що мідь у різних формах має виражену антибактеріальну, фунгіцидну та противірусну активність [2]. У свою чергу, НЧМ, завдяки поєднанню зумовлених нанорозмірністю фізико-хімічних властивостей та біологічної активності, є потенційним кандидатом на створення лікарських засобів нового класу. Препарати на основі наноструктурованої міді можуть знайти застосування у лікуванні, зокрема внутрішньолікарняних інфекцій, спричинених антибіотикорезистентними штамми бактерій. Згідно з даними літератури, НЧМ здатні біоцидно впливати на широкий спектр мікроорганізмів, у тому числі на метицилінрезистентні штами золотистого стафілокока [3].

Доцільним є проведення досліджень зі встановлення безпеки та протимікробної активності НЧМ для подальшого впровадження цих сполук у медичну практику для лікування інфекцій, викликаних, зокрема, антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів.

Одним з етапів розроблення лікарського засобу є виконання комплексу доклінічних досліджень, невід'ємною складовою якого є визначення впливу досліджуваної субстанції на серцево-судинну систему тварин [4].

Мета представленої у статті дослідження – встановлення впливу НЧМ на показники системної та кардіогемодинаміки кролів у разі внутрішньовенного введення в умовах гострого експерименту.

Матеріали та методи дослідження

Стабільні сферичні наночастинки нуль-валентної міді розміром 20 нм надано Інститутом біологічної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України (м. Київ). Наноматеріал синтезований за оригінальним протоколом методом хімічної конденсації у водному розчині. До наночастинок надано паспорт безпеки, у якому зазначено, що НЧМ не мають генотоксичних, цитотоксичних та мутагенних властивостей, біобезпечні за маркерами АТФ-азної та ЛДГ-азної активності [5].

Дослідження здійснено на 8 кролях породи Шиншила масою 3,0–4,0 кг з дотриманням [6, 7]. У гострому експерименті (наркоз – уретан 1,0 г/кг) після катетеризації

лівого шлуночка серця та зовнішньої клубової артерії кроля на приладі Hp Viridia Component Monitoring System (Hewlett Packard, США) упродовж 2 год реєстрували такі параметри гемодинаміки: частоту серцевих скорочень (ЧСС, уд./хв), максимальний тиск у лівому шлуночку (P_{max} , мм рт. ст.), систолічний артеріальний тиск (AT_C , мм рт. ст.), діастолічний артеріальний тиск (AT_D , мм рт. ст.). На основі одержаних даних розраховували значення пульсового тиску (ПТ, мм рт. ст.) та середнього динамічного тиску (СДТ, мм рт. ст.). У результатах показники гемодинаміки подано у відносних одиницях, за одиницю (1,000) обрано вихідні значення відповідних параметрів.

Тварин рандомізували у 2 групи – введення досліджуваної субстанції НЧМ та контрольну (введення розчинника – води для ін'єкцій) – по 4 особини у кожній.

Досліджувану субстанцію та розчинник вводили внутрішньовенно (у велику вушну вену) чотирикратно з інтервалом у 30 хв за схемою (таблиця). Показники системної та кардіогемодинаміки реєстрували перед введенням та через 1, 5, 10, 20 та 30 хв після кожного введення.

Т а б л и ц я

Схема введення наночастинок міді та води для ін'єкцій кролям в умовах гострого експерименту

Час від першого введення, хв	НЧМ		Вода для ін'єкцій	
	дробова доза, мг/кг	кумулятивна доза, мг/кг	дробовий об'єм, мл	кумулятивний об'єм, мл
0	4	4	0,10	0,10
30	16	20	0,40	0,50
60	20	40	0,50	1,00
90	40	80	1,00	2,00

П р и м і т к а: НЧМ – наночастинок міді; дробова доза – однократна доза у разі внутрішньовенного введення; кумулятивна доза – загальна доза, сума всіх попередніх дробових доз; дози НЧМ зазначено у перерахунку на метал; об'єм води для ін'єкцій зазначено з розрахунку на 3,5 кг маси тіла кроля.

Вибір доз зумовлений результатами експерименту з визначення ефективності НЧМ у разі лікування генералізованої інфекції дослідних тварин [неопубліковані дані]. Перша та третя кумулятивні дози (відповідно, 4 мг/кг і 40 мг/кг) відповідають меншій та більшій умовно-терапевтичним дозам, застосованим у цьому дослідженні. Друга та четверта кумулятивні дози, відповідно, перевищують меншу умовно-терапевтичну дозу у 5 разів та більшу – у 2.

Статистичну обробку даних виконано із застосуванням U-критерію Манна-Уїтні для порівняння незалежних вибірок та парного t-критерію Стьюдента для порівняння залежних вибірок, за допомогою програми BioStat 2009 for Windows (v5.8.4.3) компанії AnalystSoft Inc. Відмінності показників вважали статистично значущими при $P < 0,05$. Результати окремих вимірювань подано у відносних одиницях у вигляді середніх значень зі стандартними помилками.

Результати дослідження та обговорення

Вплив НЧМ на ЧСС, P_{max} , AT_C , AT_D , ПТ та СДТ кролів наведено на рис. 1–6.

У групі контролю протягом експерименту не виявлено статистично значущих відмінностей ЧСС порівняно з вихідним значенням показника. У групі застосування НЧМ на 10 та 20 хв після введення четвертої дробової дози (кумулятивна доза 80 мг/кг) спостерігали відмінності порівняно з вихідним значенням ЧСС – цей показник знижувався на 8,3% та 7,0% відповідно. Статистично значущих відмінностей значень

ЧСС між групами контролю та введення НЧМ не виявлено. У групі введення НЧМ спостерігалася тенденція до зниження ЧСС порівняно з контролем (на 9,1% наприкінці експерименту) (рис. 1).

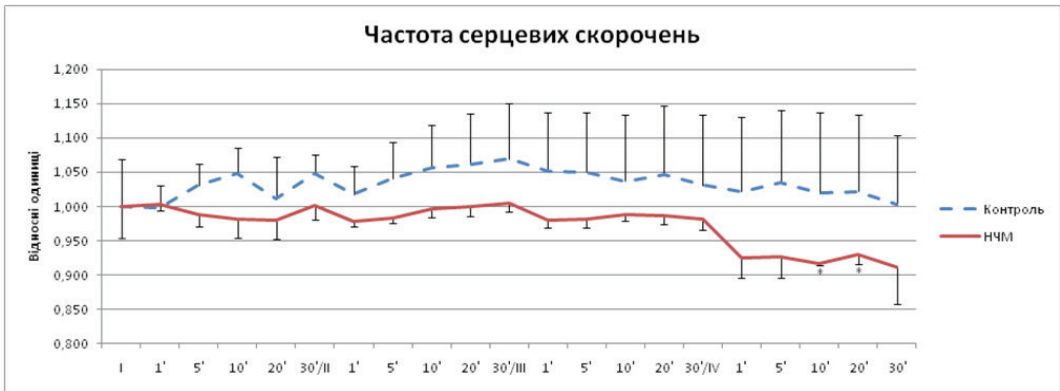


Рис. 1. Вплив наночастинок міді на частоту серцевих скорочень кролів у разі внутрішньовенного введення у гострому експерименті

Примітка (у цьому та рис. 2–6): НЧМ – наночастинок міді; I, II, III, IV – введення першої, другої, третьої та четвертої дробових доз; * – статистично значуща відмінність порівняно з вихідним значенням показника, $P < 0,05$; § – статистично значуща відмінність порівняно з контролем, $P < 0,05$.

У групі контролю на 20 та 30 хв після четвертого введення води для ін'єкцій спостерігали відмінності порівняно з вихідним значенням P_{max} – цей показник знижувався на 21,3% та 22,6% відповідно. У групі застосування НЧМ на 30 хв після введення четвертої дробової дози (кумулятивна доза 80 мг/кг) реєстрували відмінності порівняно з вихідним значенням P_{max} – показник знижувався на 19,5%. Статистично значущих відмінностей значень P_{max} між групами контролю та введення НЧМ не виявлено, однак у групі застосування НЧМ спостерігалася тенденція до реєстрації більш високих значень цього показника порівняно з контролем: на 12,4% перед введенням третьої дробової дози (кумулятивна доза 20 мг/кг), на 14,1% – перед введенням четвертої (кумулятивна доза 40 мг/кг) та на 4,0% – наприкінці експерименту (рис. 2).

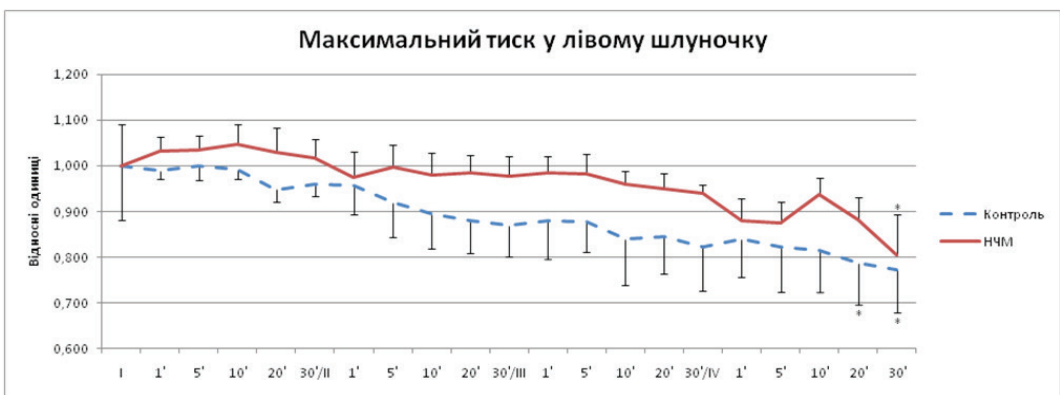


Рис. 2. Вплив наночастинок міді на максимальний тиск у лівому шлуночку кролів у разі внутрішньовенного введення у гострому експерименті

У групі контролю, починаючи з 20 хв після другого введення води для ін'єкцій, спостерігали зниження AT_C порівняно з вихідним значенням: на 13,8% на 20 хв після другого введення та на 27,3% наприкінці експерименту. У групі застосування НЧМ

протягом всього експерименту не виявлено статистично значущих відмінностей показника AT_C порівняно з вихідним значенням та порівняно з контролем. У групі введення НЧМ спостерігалася тенденція до реєстрації більш високих (на 12,0% наприкінці експерименту) значень AT_C порівняно з контролем (рис. 3).



Рис. 3. Вплив наночастинок міді на систолічний артеріальний тиск кролів у разі внутрішньовенного введення у гострому експерименті

У групі контролю, починаючи з 20 хв після другого введення води для ін'єкцій, спостерігали зниження AT_D порівняно з вихідним значенням: на 11,8% на 20 хв після другого введення та на 21,4% наприкінці експерименту. У групі застосування НЧМ упродовж всього експерименту не виявлено статистично значущих відмінностей AT_D порівняно з вихідним значенням та порівняно з контролем. У групі введення НЧМ спостерігалася тенденція до реєстрації більш високих (на 11,6% наприкінці експерименту) значень AT_D порівняно з контролем (рис. 4).

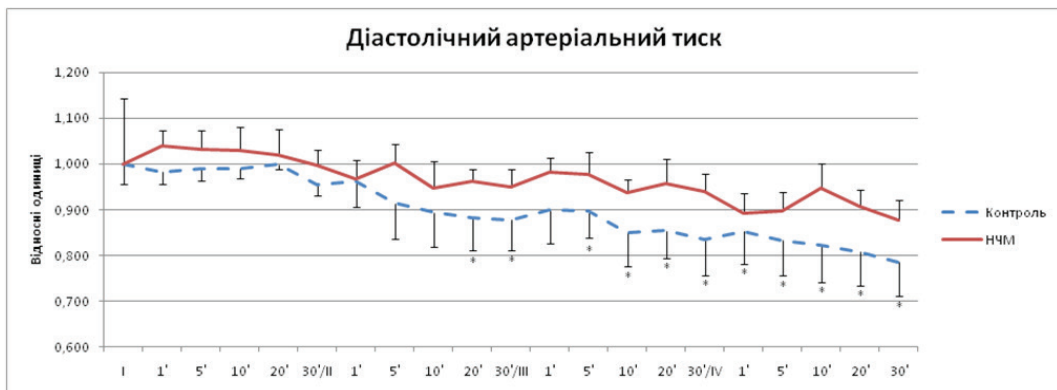


Рис. 4. Вплив наночастинок міді на діастолічний артеріальний тиск кролів у разі внутрішньовенного введення у гострому експерименті

У групі контролю, починаючи з 30 хв після третього введення води для ін'єкцій, спостерігали зниження ПТ порівняно з вихідним значенням: на 28,5% на 30 хв після третього введення та на 38,9% наприкінці експерименту (рис. 5).

У групі застосування НЧМ на 30 хв після введення четвертої дробової дози (кумулятивна доза 80 мг/кг) спостерігали відмінності порівняно з вихідним значенням ПТ – цей показник знижувався на 40,6%. У групі введення НЧМ спостерігалася тенденція до реєстрації більш високих значень ПТ порівняно з контролем: на 28,7% перед

введенням третьої дробової дози (кумулятивна доза 20 мг/кг) та на 24,1% – перед введенням четвертої (кумулятивна доза 40 мг/кг). На 5 хв після введення четвертої дробової дози НЧМ (кумулятивна доза 80 мг/кг) виявлено статистично значущі відмінності значень ПТ між групами контролю та застосування НЧМ. Показник ПТ у разі застосування НЧМ перевищував відповідний параметр контролю на 29,7%. Однак наприкінці експерименту значення показника в обох групах відрізнялися одне від одного лише на 2,8% (статистично значущі відмінності відсутні) (рис. 5).

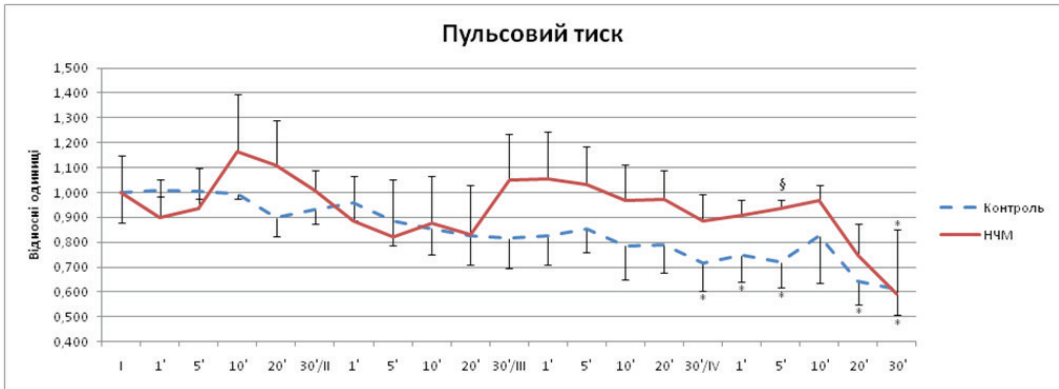


Рис. 5. Вплив наночастинок міді на пульсовий тиск кролів у разі внутрішньовенного введення у гострому експерименті

У групі контролю, починаючи з 20 хв після другого введення води для ін'єкцій, спостерігали зниження СДТ порівняно з вихідним значенням: на 12,6% на 20 хв після другого введення та на 24,0% наприкінці експерименту. У групі застосування НЧМ протягом всього експерименту не виявлено статистично значущих відмінностей показника СДТ порівняно з вихідним значенням та порівняно з контролем. У групі застосування НЧМ спостерігалася тенденція до реєстрації більш високих (на 12,1% наприкінці експерименту) значень СДТ порівняно з контролем (рис. 6).

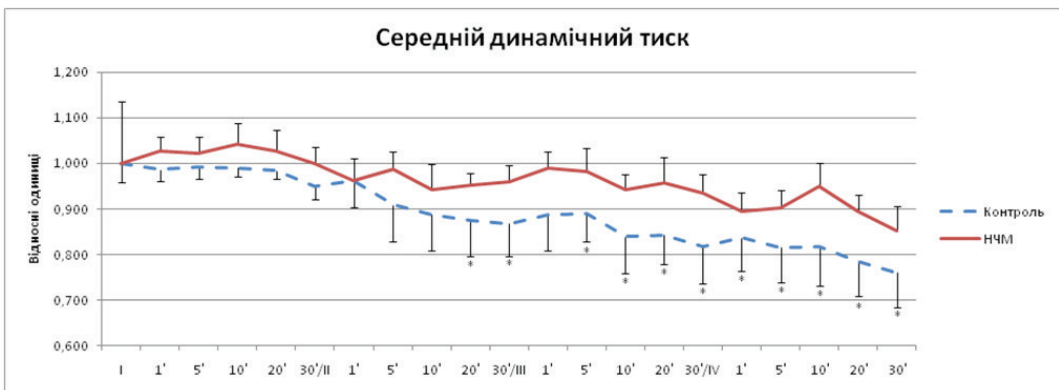


Рис. 6. Вплив наночастинок міді на середній динамічний тиск кролів у разі внутрішньовенного введення у гострому експерименті

Згідно з даними літератури, НЧМ у разі перорального та внутрішньоочеревинного введення тваринам здатні спричинювати патологічні зміни у шлунково-кишковому тракті, печінці, нирках, селезінці та центральній нервовій системі. У токсикологічних дослідженнях НЧМ *in vitro* та *in vivo* не виявлено безпосереднього негативного

впливу наноструктурованої міді на серцево-судинну систему [8]. Одержані у поданому в статті дослідженні результати також свідчать на користь відсутності вираженого впливу НЧМ на показники гемодинаміки.

Відзначена тенденція до зниження ЧСС та підвищення P_{max} , AT_c та AT_d у кролів за внутрішньовенного введення НЧМ, що збігається з відповідними даними літератури. Але на відміну від міді в іонній формі, одержані зміни показників гемодинаміки не мали статистично значущих відмінностей порівняно з контролем.

В и с н о в к и

1. Наночастинки міді за внутрішньовенного введення кролям у дозах 4–80 мг/кг не мають негативного впливу на такі показники системної та кардіогемодинаміки, як частота серцевих скорочень, максимальний тиск у лівому шлуночку, систолічний артеріальний тиск та діастолічний артеріальний тиск.

2. Внутрішньовенне введення кролям наночастинок міді у дозах 4–80 мг/кг характеризується відсутністю статистично значущих змін у середньому динамічному тиску порівняно з контролем – введенням води для ін'єкцій. Відмінності у значеннях пульсового тиску між відповідними групами є незначними.

3. Наночастинки міді можна вважати біобезпечними за впливом на показники системної та кардіогемодинаміки у разі внутрішньовенного введення кролям в умовах гострого експерименту.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Чекман І. С., Ульберг З. Р., Маланчук В. О. та ін. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація. – К.: Поліграф плюс, 2012. – 328 с.

2. Borkow G., Gabbay J. Copper, an ancient remedy returning to fight microbial, fungal and viral infections // *Curr. Chem. Biol.* – 2009. – V. 3. – P. 272–278.

3. Ren G., Hu D., Cheng E. W. C. et al. Characterization of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2009. – V. 33. – P. 587–590.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації / Під ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.

5. Трахтенберг І. М., Ульберг З. Р., Чекман І. С. та ін. Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів. Метод. рекомендації. – К.: Міністерство охорони здоров'я, 2013. – 108 с.

6. Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 944 від 14. 12. 2009 р. «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів». – Режим доступу: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10>

7. Закон України № 3447-IV від 21. 02. 2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження». – Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>

8. Privalova L. I., Katsnelson B. A., Loginova N. V. et al. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – V. 15, N 7. – P. 12379–12406.

Надійшла до редакції 22. 06. 2015.

П. В. Симонов

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

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОДИНАМИКИ КРОЛЕЙ В ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Ключевые слова: наночастицы меди, гемодинамика, артериальное давление, безопасность

АННОТАЦИЯ

Известно, что медь обладает выраженной антибактериальной, фунгицидной и противовирусной активностью. В свою очередь, наночастицы меди, благодаря сочетанию обусловленных наноразмерностью физико-химических свойств и биологической активности, являются потенциальным кандидатом на создание лекарственных средств нового класса. Актуально проведение исследований по установлению безопасности и противомикробной активности наноструктурированной меди для дальнейшего внедрения этого соединения в медицинскую практику для лечения инфекций, вызванных, в частности, антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов.

Цель представленного в статье исследования – установление влияния наночастиц меди на показатели системной и кардиогемодинамики кролей при внутривенном введении в условиях острого эксперимента.

В эксперименте использовали синтезированные в Институте биocolлоидной химии имени Ф. Д. Овчаренко НАН Украины по оригинальному протоколу методом химической конденсации в водном растворе стабильные сферические наночастицы нуль-валентной меди размером 20 нм. Исследования проведены на 8 кролях породы Шиншилла. Исследуемую субстанцию или растворитель вводили внутривенно четырехкратно с интервалом в 30 мин в течение 2 часов. Показатели системной и кардиогемодинамики регистрировали перед введением и через 1, 5, 10, 20 и 30 мин после каждого введения.

Установлено, что наночастицы меди в дозах 4–80 мг/кг не оказывают отрицательного воздействия на частоту сердечных сокращений, максимальное давление в левом желудочке, систолическое артериальное давление, диастолическое артериальное давление, пульсовое давление и среднее динамическое давление. Исследуемую субстанцию можно считать биобезопасной по влиянию на данные показатели гемодинамики при внутривенном введении кролям.

P. V. Simonov

Bogomolets National Medical University, Kyiv

AN INFLUENCE OF COPPER NANOPARTICLES ON THE HEMODYNAMICS OF RABBITS IN ACUTE EXPERIMENT

Key words: copper nanoparticles, hemodynamics, blood pressure, safety

АБСТРАКТ

It is known that copper has a pronounced antibacterial, antifungal, and antiviral activity. Copper nanoparticles, in turn, are promising candidates for the development of a new class of drugs due to a combination of nanoscale physico-chemical properties and biological activity. The studies on safety and antimicrobial activity of nanostructured copper for the sake of its further introduction into clinical practice for the treatment of nosocomial infections are of great relevance.

The objective of the present study was the determination of an influence of copper nanoparticles on systemic and cardiac hemodynamic indices in rabbits when administered intravenously in acute experiment. 20 nm copper nanoparticles were synthesized at F. D. Ovcharenko Institute of Biocolloidal Chemistry of NAS of Ukraine by original protocol of chemical condensation in aqueous solution method. The study was carried out on 8 Chinchilla rabbits. The test substance or the solvent were administered four times each intravenously every 30 minutes over 2 hours. Systemic and cardiac hemodynamic indices were recorded before administration and at 1, 5, 10, 20, and 30 minutes after each administration.

It was found out that copper nanoparticles at doses of 4–80 mg/kg did not show a negative impact on the heart rate, the maximum left ventricular pressure, the systolic blood pressure, the diastolic blood pressure, the pulse pressure, and the mean arterial pressure. The test substance may be considered biosafe in terms of the influence on the hemodynamic indices when administered intravenously to rabbits.

Електронна адреса для листування з автором: simonovpavlo@ukr.net