

## ТОКСИЧНА ДІЯ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ МАРГАНЦЮ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ

**Резюме.** Встановлено, що сполуки марганцю мають негативний вплив на живий організм, проявляючи нейротоксичний і гепатотоксичний ефекти та індукуючи оксидативний стрес. Оскільки працівники заводів із добування та переробки марганцевих руд, а також інженери-зварювальники постійно контактують із наночастинами марганцю, дослідження токсичного впливу цих наночастинок на живі організми є актуальним.

**Мета дослідження** – вивчити токсичність марганцю у формі наночастинок порівняно з еквівалентними дозами марганцю у формі солі при їх пероральному введенні в організм.

**Матеріали і методи.** Для експерименту використовували самців білих щурів лінії Вістар (3 дослідні групи по 8 особин). Тварини першої грипи були інтактними. Розчин солі марганцю та суспензію наночастинок щоденно вводили тваринам другої та третьої груп відповідно за допомогою зонда в перерахунок на разову дозу марганцю 10,9 мг/кг маси тіла. Для визначення біохімічних показників використовували набори реактивів фірм “Філісіт-Діагностика” та “СпайнЛаб”.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Змодельовано отруєння за умов гострого введення суспензії *per os* наночастинок оксиду марганцю та розчину солі марганцю протягом 8 днів з перерахунок на сумарну дозу марганцю 87,2 мг/кг маси тіла білих щурів. Показано, що введення марганцевмісних сполук у формі наночастинок та солі індукувало достовірні зміни біохімічних показників.

**Висновки.** Введення сполук марганцю індукує достовірні зміни біохімічних показників сироватки крові та гомогенатів, гепатотоксичність та нейротоксичність, а також оксидативний стрес. При введенні еквівалентних доз марганцю його токсичність у формі наносполуки вища, ніж у вигляді солі марганцю.

**Ключові слова:** наночастинок; токсичність; марганець.

**ВСТУП** Відомо, що наночастинок оксиду марганцю мають токсичний ефект на живий організм [1]. При застосуванні наночастинок, діаметр яких менший ніж 30 нм, спостерігаються нейротоксичні прояви, інтенсивність яких залежить від способу введення. При інгаляційному введенні наночастинок здатні проникати безпосередньо у головний мозок по нюховому нерву [12]. При хронічному інтраназальному введенні простежується збільшення відносного рефрактерного періоду хвостового нерва, разом з тим, як при інтратрахеальному введенні такої ж дози одномоментних наночастинок збільшується латентний період виникнення кіркового потенціалу у візуальній, слуховій та першій соматосенсорній ділянці [11]. Вдихання марганцевмісних наночастинок може спричинити широке коло захворювань дихальних шляхів, таких, як емфізема, рак легень, хронічне обструктивне захворювання легень, фіброз, астма. Результати досліджень ряду авторів [6, 8] показують, що інгаляційне введення наночастинок оксиду марганцю індукує у дихальних шляхах експериментальних тварин зменшення загальної кількості клітин. При вдиханні наночастинок підвищується їх концентрація в печінці, мозочку, нюховій цибуліні й корі головного мозку [6].

Найважливішим ефектом впливу наночастинок на клітинному рівні є продукція активних форм кисню, що запускає апоптичний каскад та підвищує каталітичну активність [6]. Встановлено, що при введенні високих доз наночастинок оксиду марганцю клітина реагує на оксидативний стрес і у відповідь запускає антиоксидантний механізм захисту [3], протизапальну реакцію та індукує власний апоптоз [7]. Дослідження металовмісних наночастинок показали, що вони мають чітко виражений гепатотоксичний ефект [10], який реалізується через оксидативний стрес [3]. Результати мікроскопічного дослідження виявили аномальні розміри та неправильну форму гепатоцитів, уражених наночастинами [10]. Також відомо, що марганець здатний порушувати роботу ендокринних залоз [9].

**Метою дослідження** було порівняти токсичність марганцевмісних наночастинок і солі марганцю при їх пероральному введенні в організм.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Експеримент проведено на самцях білих лабораторних щурів лінії Вістар масою 150–185 г, отриманих із віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”. Тварин утримували за стандартних умов на звичайному харчовому та водному раціоні.

В експерименті було 3 групи тварин (n=8). Тварини першої групи були інтактними (контрольна група). Тварини другої групи одержували розчин хлориду марганцю. Тваринам третьої групи вводили суспензію наночастинок оксиду марганцю. Упродовж 8 днів проводили щоденне *per os* введення розчину солі марганцю (тваринам другої групи) та суспензії наночастинок (тваринам третьої групи) за допомогою зонда в перерахунок на разову дозу марганцю 10,9 мг/кг маси тіла. Сумарну дозу марганцю було обрано на основі літературних даних [11]. Розвели соль хлориду марганцю (друга) у дистильованій воді. Як рідке дисперсійне середовище для суспензії наночастинок також використовували дистильовану воду. Диспергування наночастинок у воді чи розчині ТХМ проводили за допомогою ультразвукового диспергатора УЗДН-М750Т (20–25 кГц, 750 Вт) протягом 5 хв.

Через 24 год після останнього введення розчину солі марганцю та суспензії марганцевмісних наночастинок тварин усипляли тіопенталом натрію. Проводили забір крові та органів (мозок та печінка). Для біохімічних досліджень використовували гомогенат органів та сироватку крові. Вміст у сироватці крові глюкози, загального білка та активність аланінамінотрансферази (АЛАТ), аспартатамінотрансферази (АСАТ), лужної фосфатази, γ-глутаміламінотрансферази (ГГТ), холінестерази визначали, використовуючи набори реагентів ТОВ “Філісіт-Діагностика”. Активність кислої фосфатази у сироватці визначали, використовуючи набір реагентів ТОВ “СпайнЛаб”.

Вміст церулоплазміну в сироватці крові встановлювали згідно з методикою [4]. Визначення вмісту відновленого глутатіону та активності супероксиддисмутази (СОД) у гомогенатах проводили за методиками [2, 5].

Статистичний аналіз результатів виконували з використанням непараметричного статистичного критерію Манна-Уїтні. Результати представили як середнє значення  $\pm$  середньоквадратичне відхилення ( $M \pm m$ ). Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично достовірною при значенні  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження біохімічних показників виявили, що при введенні солі марганцю та марганцевмісних наночастинок спостерігалось достовірне зростання активності АлАТ, АсАТ та зниження активності кислої фосфатази у сироватці крові. Застосування наночастинок марганцю індукувало зниження активності СОД у печінці, підвищення активності лужної фосфатази у сироватці крові та СОД в мозку, а також зростання вмісту церуло-

плазміну і глюкози у сироватці крові та відновленого глутатіону в печінці. Необхідно відмітити, що введення солі марганцю знижувало рівень церулоплазміну в сироватці крові (табл.).

Таким чином, і у тварин, яким вводили суспензію марганцевмісних наночастинок і в тварин, яким вводили сіль марганцю, спостерігається порушення функцій печінки (гепатотоксичний ефект марганцю), про що свідчать зміни активності маркерних ферментів. Зростання рівня церулоплазміну в сироватці крові, зміни активності СОД у гомогенатах органів та збільшення вмісту відновленого глутатіону в печінці тварин третьої дослідної групи (відносно показників першої та другої дослідних груп) вказує на розвиток загального оксидативного стресу під впливом наночастинок марганцю.

Таблиця. Біохімічні показники сироватки крові та гомогенатів органів щурів при гострому введенні ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Показник	Перша група	Друга група	Третя група
Кисла фосфатаза (Од/л)	31,45 $\pm$ 6,14	21,94 $\pm$ 5,80 *	22,45 $\pm$ 6,01 *
Лужна фосфатаза (мкмоль/(л·с))	36,35 $\pm$ 6,02	39,04 $\pm$ 1,63	53,95 $\pm$ 7,32 *
АлАТ (Од/л)	69,11 $\pm$ 3,08	89,0 $\pm$ 3,89 *	89,7 $\pm$ 1,39 *
АсАТ (Од/л)	97,63 $\pm$ 3,69	112,46 $\pm$ 10,51 *	116,79 $\pm$ 7,69*
Коефіцієнт де Рітіса	1,39 $\pm$ 0,06	1,27 $\pm$ 0,12	1,30 $\pm$ 0,09
ГГТ (нмоль/(л·с))	108,9 $\pm$ 57,6	112,0 $\pm$ 5,0	101,1 $\pm$ 51,1
Церулоплазмін (мг/л)	23,47 $\pm$ 3,06	19,72 $\pm$ 2,62 *	26,34 $\pm$ 0,83 *. **
Глюкоза (ммоль/л)	8,86 $\pm$ 1,23	10,63 $\pm$ 1,36	11,79 $\pm$ 2,57 *
Холінестераза (ммоль/л)	57,81 $\pm$ 15,99	40,63 $\pm$ 22,15	44,93 $\pm$ 7,71
Загальний білок (г/л)	67,71 $\pm$ 8,33	72,69 $\pm$ 5,17	74,15 $\pm$ 8,18
Відновлений глутатіон мозку (ммоль/кг)	291,23 $\pm$ 104,44	231,58 $\pm$ 131,0	200,0 $\pm$ 75,74
Відновлений глутатіон печінки (ммоль/кг)	1684,21 $\pm$ 283,54	1936,84 $\pm$ 475,64	2694,74 $\pm$ 281,49 *. **
СОД мозку ( $10^6$ Од/кг)	0,8016 $\pm$ 0,0475	0,8417 $\pm$ 0,11	0,9034 $\pm$ 0,069 *
СОД печінки ( $10^6$ Од/кг)	1,0158 $\pm$ 0,17	0,8772 $\pm$ 0,25	0,5611 $\pm$ 0,0942 *. **

Примітки: 1) \* –  $p < 0,05$  відносно тварин першої групи (контроль);  
2) \*\* –  $p < 0,05$  відносно тварин другої групи (розчин солі марганцю).

**ВИСНОВКИ 1.** При гострому введенні дослідним твариною розчину солі марганцю та суспензії марганцевмісних наночастинок спостерігаються достовірні зміни біохімічних показників, що свідчать про ураження печінки (гепатотоксичний ефект марганцю).

2. Наночастинок оксиду марганцю індукують оксидативний стрес.

3. При введенні еквівалентних доз марганцевмісних наночастинок та солі марганцю наночастинок проявляють більший токсичний ефект.

4. Дослідження токсичних ефектів наночастинок є перспективним та актуальним у наш час.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Головенко М. Наномедицина: досягнення та перспективи розвитку новітніх технологій в діагностиці та лікуванні / М. Головенко // Журн. АМН України. – 2007. – Т. 13. – № 4. – С. 4–25.
- Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / [В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.]; за ред. В. В. Влізла. – Львів: СПОЛОМ, 2012. – 764 с.
- Доманова А. А. Біологічна роль марганцю в організмі людини і тварин: курсова робота / А. А. Доманова. – Чернігів, 2008. – С. 425.
- Колб В. Г. Определение активности церулоплазмينا в крови / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – М.: Беларусь, 1976. – 312 с.
- Чевари С. Роль супероксидредуктазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
- Elder A. Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system / A. Elder, R. Gelein, V. Silva [et al.] // Environ. Health Perspect. – 2006. – №114. –P. 1172–1178.
- Hamai D. Oxidative basis of manganese neurotoxicity / D. Hamai, S. Bondy // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2004. – Vol. 1012 – P.129–141.
- General and electrophysiological toxic effects of manganese in rats following subacute administration in dissolved and nanoparticle form / E. Horvath, Z. Mate, S. Takacs, P. Pusztai // The Scientific World Journal – 2012.
- Huang Y.L. In vitro effects of metal ions (Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>) on sperm motility and lipid peroxidation in human semen / Y. L. Huang, W. C. Tseng, T. H. Lin // J. Toxicol. Environ. Health. – 2001. – Vol. 62 – P. 259–267.
- Hussain S. M. The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion / S. M. Hussain,

A. K. Javorina, A. M. Schrand // Toxicological Sciences. – 2006. – Vol. 92(2). – P. 456–463.

11. Santos D. The inhibitory effect of manganese on acetylcholinesterase activity enhances oxidative stress and neuroinflammation

in the rat brain / D. Santos, D. Milatovic, V. Andrade [et al.] // Toxicology. – 2012. – Vol. 292 (2-3) – P. 90–98.

12. Sarkozi L. Subacute intratracheal exposure of rats to manganese nanoparticles: behavioral, electrophysiological, and general toxicological effects / L. Sarkozi, E. Horvath, Z. Kenya, I. Kiricsi // US National Library of Medicine. – 2009.

Отримано 05.09.17

©M. P. Fedchyshyn, M. M. Korda

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University

#### TOXIC EFFECT OF MANGANESE OXIDE NANOPARTICLES IN ACUTE EXPERIMENT

**Summary.** It has been established that manganese compounds have a negative effect on a living organism, exhibiting neurotoxic and hepatotoxic effects and inducing oxidative stress. Since the employees of the manganese ore extraction factory as well as the weld engineers, are constantly in contact with manganese nanoparticles, the study of toxic effects of these nanoparticles on living organisms is relevant.

**The aim of the study** – to investigate the toxicity of manganese in the form of nanoparticles compared with equivalent doses of manganese in the form of salt in their oral administration into the body.

**Materials and Methods.** For the experiment, male rats of the Wistar line have been used (3 experimental groups of 8 rats in each). Animals of the first group were intact. A solution of manganese salts and a suspension of nanoparticles has been administered daily to animals of groups II and III by means of a probe, taking into account a single dose of manganese of 10.9 mg/kg of body weight. For determination of biochemical parameters, sets of reagents of firms "Filisit-Diagnostika" and "SpinLab" have been used.

**Results and Discussion.** The poisoning was simulated in conditions of acute *per os* administration of manganese oxide nanoparticles suspension and manganese salt solution for 8 days (total dose of manganese 87.2 mg/kg body weight of white rats). It has been shown that the introduction of manganese-containing nanoparticles and manganese salt induced significant changes of biochemical parameters.

**Conclusions.** Introduction of compounds of manganese induces significant changes in the biochemical parameters of blood serum and homogenates, inducing hepatotoxicity and neurotoxicity, as well as oxidative stress. In the administration of equivalent doses of manganese, its toxicity in the form of a nanocompound is higher than in the form of a manganese salt.

**Key words:** nanoparticles; toxicity; manganese.

©М. П. Федчишин, М. М. Корда

ГВУЗ "Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского"

#### ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА МАРГАНЦА В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

**Резюме.** Установлено, что соединения марганца имеют негативное влияние на живой организм, проявляя нейротоксический и гепатотоксический эффекты и индуцируя оксидативный стресс. Поскольку работники заводов по добыче и переработке марганцевых руд, а также инженеры-сварщики постоянно контактируют с наночастицами марганца, исследования токсического воздействия этих наночастиц на живые организмы является актуальным.

**Цель исследования** – изучить токсичность марганца в форме наночастиц по сравнению с эквивалентными дозами марганца в форме соли при их пероральном введении в организм.

**Материалы и методы.** Для эксперимента использовали самцов белых крыс линии Вистар (3 исследовательские группы по 8 особей). Животные первой группы были интактными. Раствор соли марганца и суспензию наночастиц ежедневно вводили животным второй и третьей групп соответственно с помощью зонда в пересчете на разовую дозу марганца 10,9 мг/кг массы тела. Для определения биохимических показателей использовались наборы реактивов фирм "Филисит-Диагностика" и "Спайн-Лаб".

**Результаты исследований и их обсуждения.** Смоделировано отравление в условиях острого введения суспензии *per os* наночастиц оксида марганца и раствора соли марганца в течение 8 дней в пересчете на суммарную дозу марганца 87,2 мг/кг массы тела белых крыс. Показано, что ввод марганецсодержащих соединений в форме наночастиц и соли индуцировало достоверные изменения биохимических показателей.

**Выводы.** Введение соединений марганца индуцирует достоверные изменения биохимических показателей сыворотки крови и гомогенатов, гепатотоксичность и нейротоксичность, а также оксидативный стресс. При введении эквивалентных доз марганца его токсичность в форме наночастицы выше, чем в виде соли марганца.

**Ключевые слова:** наночастицы; токсичность; марганец.