

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ВЛИЯНИЕ АСПАРГИНАТА И НАНОЧАСТИЦ МЕДИ В БИОТИЧЕСКОЙ ДОЗЕ НА ЭЛЕМЕНТНЫЙ СТАТУС ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

А.Б. Тимашева¹, С.В. Мирошников^{1,2*}, С.В. Нотова¹, С.В. Лебедев¹

¹ Оренбургский государственный университет

² Оренбургская медицинская академия

РЕЗЮМЕ. Актуальным вопросом современности является оценка особенностей воздействия наночастиц металлов (в частности, наночастиц меди) на живой организм. Целью настоящей работы было исследование влияния наночастиц меди и аспарагината меди на элементный состав лабораторных животных. Для исследования влияния наночастиц меди на организм и микроэлементный статус были использованы наночастицы сферической формы со средним размером частиц $103,0 \pm 2,0$ нм. Внутримышечное введение крысам линии Вистар раствора аспарагината меди в дозе 2 мг меди/кг массы тела сопровождалось достоверным ($p \leq 0,05$) повышением в организме не только уровня меди, но также кобальта, кальция, фосфора и стронция на фоне снижения уровней йода, селена и свинца. Аналогичное внутримышечное введение водного раствора наночастиц меди в той же концентрации увеличивало в организме крыс концентрации меди, кальция, фосфора и стронция, а также алюминия. В то же время действие наночастиц меди не изменяло уровень селена в организме крыс, но снижало концентрации свинца и йода. Интенсивность увеличения уровней кальция и меди в организме крыс была более выражена при использовании наночастиц меди, чем аспарагината меди.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: медь, наночастицы, аспарагинат, крысы, содержание макро- и микроэлементов.

ВВЕДЕНИЕ

Из литературных источников следует, что медь участвует в поддержании адаптационных ресурсов организма человека. Это, прежде всего, объясняется активным участием меди в процессах антиоксидантной защиты и прооксидантной активности. Антиоксидантная роль меди связана с ее участием в формировании структуры супероксиддисмутазы (Klotz et al., 2003).

Основными факторами, регулируемыми всасывание меди, являются концентрация меди в рационе и обеспеченность организма этим микроэлементом. При высоком содержании меди в рационе происходит снижение всасывания и увеличение ее эндогенных потерь (Strickland, Beckner, 1972). Процессы абсорбции меди взаимосвязаны конкурентной зависимостью с цинком, кадмием и железом (Johnson, Murphy, 1988).

Дисбаланс в поступлении меди в организм приводит к развитию ряда заболеваний (Авицын и др., 1991). Нарушение утилизации железа ферритина и следующее за ним увеличение концентрации железа в печени – одно из частых последствий дефицита меди в организме. При этом развивается анемия, нарушается синтез фосфатидов, снижается активность цитохромоксидазы. Проявлениями недостаточности меди в организме яв-

ляются изменения активности допамигидроксидазы, уратоксидазы, перекисной дисмутазы (Антонович и др., 2006).

Ввиду неоспоримой биологической роли меди в организме ведется поиск источников этого элемента для восполнения дисбаланса в организме, которые бы обладали высокой биологической доступностью и пролонгированным действием. Это возможно при условии разработки новых лекарственных средств на основе альтернативных источников данного микроэлемента.

На современном этапе развития нанотехнологии стоит задача аттестации и апробации на живом организме наноматериалов. Это объясняется особенностью действия наночастиц, способных легко проникать во все органы и ткани организма и в биотических дозах стимулировать обменные процессы (Сизова и др., 2010; Вишняков и др., 2011; Сизова и др., 2012).

В то же время перечисленные особенности наночастиц могут оказывать на живые системы такое действие, которое будет способствовать развитию различных патологических состояний и даже приводить к их гибели.

Поэтому возникает необходимость изучения последствий действия наноразмерных веществ на животных и человека. Анализ литературы свидетельствует о начальном этапе исследования влияния наночастиц на структурно-функциональную реорганиза-

* Адрес для переписки:

Мирошников Сергей Владимирович
E-mail: inst_bioelement@mail.ru

цию и диапазон органотипических потенций органов животных, рассматриваемых как один из наиболее важных критериев безопасности введения металлов-микроэлементов в форме наночастиц, использование которых перспективно при решении различных задач (Богословская и др., 2009).

На основании вышеизложенного, целью настоящего исследования было установить в сравнительном аспекте влияние различных форм меди в биотических дозах на элементный статус организма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на белых крысах-самцах линии Wistar. Были использованы три группы животных массой 150–180 г. по 10 голов в каждой группе. Контрольную группу составляли интактные животные. Крысам первой (I) опытной группы внутримышечно вводили аспарагинат меди (производство ООО «В-Мин+», г. Сергиев Посад) в дозе 7 мг/кг, содержание чистой меди в котором составляло 2 мг/кг, а животным второй (II) опытной группы – водную суспензию наночастиц меди в дозе 2,0 мг/кг живой массы.

Для исследования влияния наночастиц меди на организм и микроэлементный статус крыс были использованы наночастицы со следующими физико-химическими характеристиками: средний размер наночастиц меди, имеющих сферическую форму, составлял $103,0 \pm 2,0$ нм; содержание кристаллической меди в ядре частиц – $96,0 \pm 4,5\%$, оксида меди – $4,0 \pm 0,4\%$; толщина оксидной пленки на поверхности наночастиц – 6 нм (Глущенко и др., 2008). Наночастицы меди получали методом высокотемпературной конденсации на установке Миген-3 (Ген, Миллер, 1981).

Доза введения меди была выбрана на основании данных о фармакотоксической зоне этого элемента, начинающаяся с 10 мг/кг (МПД) массы животного; согласно литературным данным ЛД₅₀ меди составляет 15 мг/кг массы животного, ЛД₁₀₀ – 30 мг/кг массы животного (Богословская и др., 2009).

Учитывая эти данные, для наших исследований была выбрана многократная доза введения меди – 2 мг/кг массы животного.

Отбор проб для исследования проводили через 21 сут. Элементный анализ (25 элементов) образцов гомогената тела проводили в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», Москва (аттестат аккредитации ГСЭН.Ии.ЦОА.311, регистрационный номер в Государственном реестре РОСС RU. 0001.513118 от 29 мая 2003 г.).

Статистическую обработку результатов проводили с применением общепринятых методик при помощи приложения «Excel» из программного пакета «Office XP» и «Statistica 6.0». Для данных, подчиняющихся закону нормального распределения, приводили значения среднего и ошибки среднего. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез при-

нимали равным 0,05. Проверку различий средних показателей проводили по критерию Стьюдента, Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении влияния введения различных форм меди на элементный статус лабораторных животных получены следующие результаты (рис. 1). Установлено, что при введении аспарагината меди в теле лабораторных животных наблюдался достоверно ($p < 0,05$) больший уровень Са (на 17,2%) и Р (на 66,5%), а также наблюдалась тенденция к более высоким значениям содержания Mg (на 41%) и Na (на 2,6%) относительно контрольной группы.

При введении наночастиц меди в теле лабораторных животных также как и в I опытной группе выявлены достоверно ($p < 0,05$) более высокие значения содержания Са (на 68%) и Р (на 23%) по сравнению с контрольной группой. Наблюдалась тенденция к большим значениям содержания К, Mg и Na на 4,7, 27 и 23% соответственно.

Таким образом, установленные изменения содержания большинства макроэлементов в опытных группах были однозначны, за исключением уровня К. Тем не менее обнаружены различия между опытными группами по степени изменения концентрации химических элементов. Так, выявлены достоверные различия между опытными группами по содержанию Са и Р. Содержание Са было достоверно выше при введении наночастиц меди на 63%, а значение Р при введении аспарагината меди – на 56%.

При сравнении накопления эссенциальных микроэлементов в теле экспериментальных животных выявлено, что при введении аспарагината меди уровень содержания Со и Си был достоверно ($p < 0,05$) больше по сравнению с контрольной группой на 80 и 26%, а Se и I достоверно ($p < 0,05$) меньше на 65 и 93% соответственно (рис. 2).

При введении наночастиц меди достоверно ($p < 0,05$) изменилось содержание Си и I. При этом концентрация Си была выше на 72%, а I ниже на 62% относительно контрольной группы.

Также наблюдалась тенденция к более высоким значениям в первой опытной группе Cr (на 5,9%), Fe (на 23%), Zn (на 29%) и снижению Mn (на 65%). Во второй опытной группе наблюдалась тенденция к большим значениям концентрации Со (на 50%), Cr (на 45%), Zn (на 12%) и снижению Fe (на 12%), Se (на 10,6%), Mn (на 10%) относительно контрольной группы.

Таким образом, введение аспарагината меди приводило к увеличению содержания большинства эссенциальных микроэлементов, за исключением I и Se, уровень которых был достоверно ниже по сравнению с контрольной группой

При сравнении опытных групп выявлены достоверные различия по содержанию Си и I. Введение наночастиц меди привело к большему (на

62%) накоплению этого элемента в организме, что свидетельствует о большей биодоступности наночастицы металла по сравнению с аспаргинатом.

Содержание I в теле лабораторных крыс в первой опытной группе по сравнению со второй было достоверно меньше на 84%.

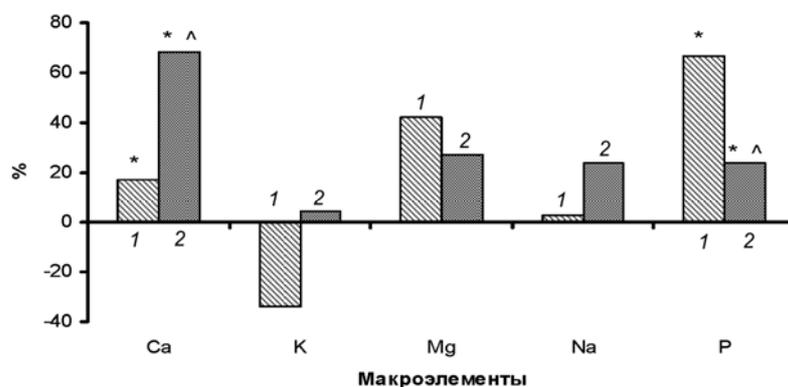


Рис. 1. Относительные значения содержания макроэлементов в теле опытных групп лабораторных крыс по сравнению с контролем (линия «0»):
* – достоверные различия ($p < 0,05$) с контрольной группой;
^ – достоверные различия ($p < 0,05$) между опытными группами;
1 – I опытная группа; 2 – II опытная группа

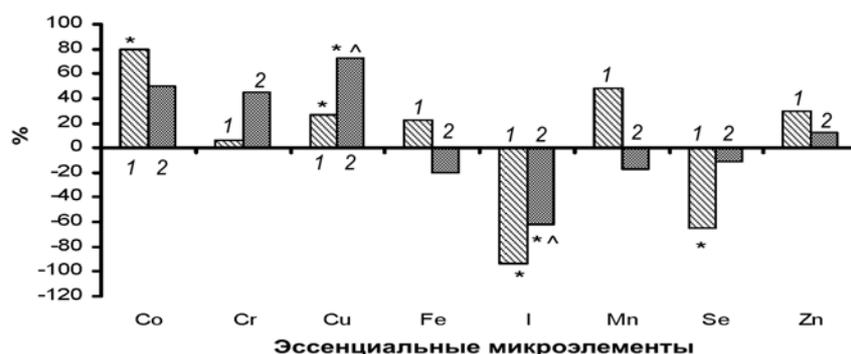


Рис. 2. Относительные значения содержания эссенциальных микроэлементов в теле опытных групп лабораторных крыс по сравнению с контролем (линия «0»):
* – достоверные различия ($p < 0,05$) с контрольной группой;
^ – достоверные различия ($p < 0,05$) между опытными группами
1 – I опытная группа; 2 – II опытная группа

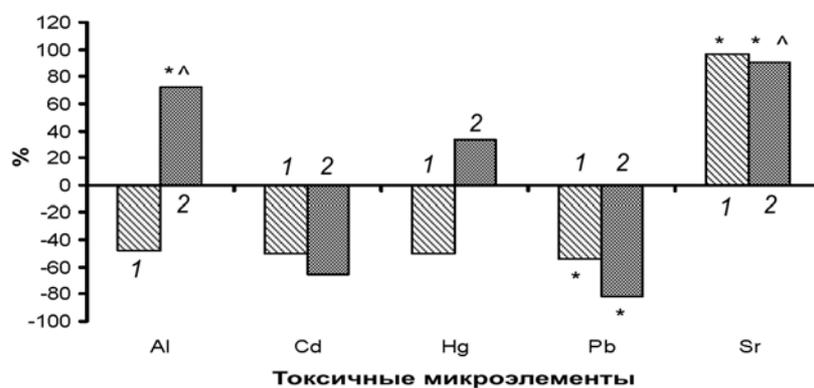


Рис. 3. Относительные значения содержания токсичных микроэлементов в теле опытных групп лабораторных крыс по сравнению с контролем (линия 0):
* – достоверные различия ($p < 0,05$) с контрольной группой;
^ – достоверные различия ($p < 0,05$) между опытными группами
1 – I опытная группа; 2 – II опытная группа

При сравнении содержания токсических микроэлементов выявлено достоверно более высокое содержание Sr в обеих опытных группах (рис. 3).

При введении аспарагината меди уровень Sr был больше на 96% ($p < 0,05$), а при введении наночастиц меди на 90% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Введение наночастиц меди также привело к достоверно большим (на 72%) значениям содержания Al, в отличие от I опытной группы, в которой уровень алюминия уменьшился на 48% по сравнению с контрольной группой. Введение меди в различных формах, также оказало влияние на содержание Pb, уровень которого был меньше в первой опытной группе на 54% ($p < 0,05$), а во второй – на 81% ($p < 0,05$) относительно контроля. Независимо от физико-химической формы препарата наблюдалась тенденция к снижению содержания Cd и Hg. Сравнение опытных групп выявило достоверную разницу по содержанию Al и Sr.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования выявлено, что физико-химическая форма вводимого в организм металла влияет на показатели минерального обмена. Данные выводы подтверждают достоверные различия между опытными группами по содержанию Ca, P, Cu, I, Al и Sr.

Большая биодоступность наноформы меди, по сравнению с аспарагинатом, подтверждается более высоким пулом этого элемента во II опытной группе.

Таким образом, в результате исследования выявлено, что при введении аспарагината меди концентрация Co, Cu, Ca, P, Sr достоверно больше ($p \leq 0,05$) на фоне достоверного меньшего содержания I, Se, Pb в теле лабораторных животных по сравнению с контролем. В то же время при введении наночастиц меди увеличивается концентрация Cu, Ca, P, Al, Sr на фоне снижения Pb, I относительно контроля. Выявлены различия между опытными группами по степени изменения химических элементов. Установлены достоверные различия между опытными группами по содержанию Ca, P, Cu, I, Sr. Во второй опытной группе (при введении нано Cu) содержание Ca, Cu, J, Al больше относительно первой опытной группы. А в первой опытной группе достоверно больше содержание P, Sr по сравнению со второй опытной группой.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на проведение научно-

исследовательских работ (шифр заявки № 4.2979.2011 г.)

ЛИТЕРАТУРА

Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991. 496 с.

Антонович Е.А., Подушняк А.Е., Щуцкая Т.А. Токсичность меди и ее соединений. Киев: Институт экологии и токсикологии им. Л. И. Медведя, 2005. 28 с.

Богословская О.А., Сизова Е.А., Полякова В.С., Мирошников С.А., Лейтунский И.О., Ольховская И.П., Глуценко Н.Н. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. № 2. С. 124–127.

Вишняков А.И., Ушаков А.С., Лебедев С.В. Особенности костномозгового кроветворения при введении наночастиц меди per os и intramuscularly // Вестник мясного скотоводства. 2011. Т. 2. № 64. С. 96–102.

Ген М.Я., Миллер А.В. Способ получения аэрозолей металлов / Авторское свидетельство СССР № 814432 // Бюллетень изобретений. 1981. № 11. С. 25.3.

Глуценко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов // Химическая физика. 2002. Т. 21(4). С. 79–85.

Сизова Е.А., Лебедев С.В., Полякова В.С., Глуценко Н.Н. Структурно-функциональная реорганизация селезенки крыс при внутримышечном введении наночастиц меди типа Cu10x // Вестник Оренбургского государственного университета. 2010. № 2. С. 129–133.

Сизова Е.А., Мирошников С.А., Лебедев С.В., Глуценко Н.Н. Влияние многократного введения наночастиц меди на элементный состав печени крыс // Вестник Оренбургского государственного университета. 2012. № 6. С. 1–3.

Johnson M.A., Murphy C.L. Adverse effects of high dietary iron and ascorbic acid on copper status in copper-deficient and copper-adequate rats // Am J Clin Nutr. 1988, 47:96–101.

Klotz L., Kronche K., Buchzyk D. et al. Metabolism of copper // J Nutr. 2003, 133: 1448–1451.

Strickland G.T., Beckner W.M. Absorption of copper in homozygotes and heterozygotes for Wilson's Disease and controls: Isotope tracer studies with ^{67}Cu and ^{64}Cu // Clin Sci. 1972, 43:617–625.

EFFECT OF BIOTIC DOSES OF COPPER ASPARTATE AND NANOPARTICLES OF COPPER ON ELEMENT STATUS OF LABORATORY ANIMALS

*A.B. Timasheva*¹, *S.V. Miroshnikov*^{1,2}, *S.V. Notova*¹, *S.V. Lebedev*¹

¹ Orenburg State University, Victory ave. 13, Orenburg, 460018, Russia

² Orenburg State Medical Academy, Sovetskaya str. 5, Orenburg, 460000, Russia

ABSTRACT. Evaluation of nanoparticles effect on living organism is considered to be of special importance in modern intensive industrial utilization of nano materials. The aim of the present work was an investigation of peculiarities in the effect of copper nanoparticles and copper aspartate solution on element profile of laboratory animals. Copper nanoparticles had spherical form with mean particle size of 103.0 ± 2.0 nm. Intravenous supplementation of copper aspartate in a dose of 2 mg of copper per kg of Wistar rats' body mass was accompanied by statistically significant ($p \leq 0.05$) increase not only of copper but also of cobalt, calcium, phosphorous and strontium. At the same time an intensive decrease of iodine, selenium and lead concentrations was demonstrated. Analogous intravenous supplementation with water solution of copper nanoparticles of the same concentration elevated concentrations of copper, calcium, phosphorous, strontium and aluminium. Contrary to aspartate, copper nanoparticles did not change the level of selenium, but decreased concentrations of lead and iodine. The intensity of calcium and copper concentrations increase was more pronounced for nanoparticles than for copper aspartate.

KEYWORDS: copper nanopowder, copper aspartate, rats, experiment, essential trace elements.

REFERENCES

- Avtsyn A.P., Zavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.S.* [Human microelementoses: etiology, classification, organopathology]. Moscow, 1991 (in Russ.).
- Antonovich E.A., Podushnyak A.E., Shchutskaya T.A.* [Toxicity of copper and its compounds]. Kiev, 2005 (in Russ.).
- Bogoslovskaya O.A., Sizova Ye.A., Polyakova V.S., Miroshnikov S.A., Leypunskiy I.O., Ol'khovskaya I.P., Glushchenko N.N.* // Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta. 2009, 2:124–127 (in Russ.).
- Vishnyakov A.I., Ushakov A.S., Lebedev S.V.* // Vestnik myasnogo skotovodstva. 2011, 2(64):96–102 (in Russ.).
- Gen M.Ya., Miller A.V.* // Byulleten' izobreteniy. 1981, 11:25.3 (in Russ.).
- Glushchenko N.N., Bogoslovskaya O.A., Ol'khovskaya I.P.* // Khimicheskaya fizika. 2002, 21(4):79–85 (in Russ.).
- Sizova E.A., Lebedev S.V., Polyakova V.S., Glushchenko N.N.* // Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta. 2010, 2:129–133 (in Russ.).
- Sizova E.A., Miroshnikov S.A., Lebedev S.V., Glushchenko N.N.* // Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta. 2012, 6:1–3 (in Russ.).
- Johnson M.A., Murphy C.L.* // Am J Clin Nutr. 1988, 47:96–101.
- Klotz L., Kronche K., Buchzyk D. et al.* // J Nutr. 2003, 133: 1448–1451.
- Strickland G.T., Beckner W.M.* // Clin Sci. 1972, 43:617–625.