

УДК 577.1:591.11:591.436.2:[546.56/.57+546.72+546.714-31]-022.532:636.932

DOI: 10.15587/2519-8025.2017.119811

## ВИЗНАЧЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА ОДНОРАЗОВОГО ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОГО ВВЕДЕННЯ СУМІШІ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ (Ag, Cu, Fe, MnO<sub>2</sub>)

© М. Є. Романько

За одноразового внутрішньошлункового введення білим щурам суміші NPMe (Ag, Cu, Fe, MnO<sub>2</sub>) у дозах 1,0, 2,0 і 4,0 мг/кг встановлено гепатотоксичну дію (за розвитком окиснювального стресу, підвищенням активності АсАТ, ГГТП і каталази, пригніченням АлАТ, ЛФ і загальної АОА, ( $p \leq 0,05$ )), а у дозі 0,3 мг/кг маси тіла – біосумісність і адаптогенну дію

**Ключові слова:** наночастинки металів, щури, токсичність, біосумісність, печінка, перекисне окиснення ліпідів, окиснювальна модифікація білків, ензими

### 1. Вступ

За останні роки нанотехнології, наномедицина і нанофармакологія інтенсивно розвиваються, що підтверджується тими публікаціями і коштами, які вкладаються у розвиток цих нових напрямків розвитку людства [1]. Швидкий розвиток нанотехнологій призводить до інтенсивного зростання чисельності наноматеріалів та застосування їх на біологічних системах [2], але інформації щодо їх потенційної небезпечності на сьогодні недостатньо та потребує більш глибокого з'ясування. Отже, на сьогодні одним з пріоритетних напрямів нанотоксикологічних досліджень є вивчення безпечності наночастинок для живих організмів шляхом оцінки їх біологічних ефектів за умов тестування регуляторної токсичності [3].

### 2. Літературний огляд

Досягнення нанобіотехнологій значною мірою позначилися на розвитку тваринництва, ветеринарної та гуманної медицини, де наноматеріали знайшли своє широке застосування у профілактиці, лікуванні та діагностиці захворювань різної етіології [4] та годівлі тварин і птиці шляхом створення нових препаратів (нутрицевтиків (кормових добавок), адсорбентів, дезінфектантів тощо) із вмістом наночастинок. На сьогоднішній день (NPMe) посідають основне місце серед наноматеріалів та мають високий комерційний потенціал з перспективами широкомасштабного застосування для потреб практичної і діагностичної медицини [5].

За результатами попередніх досліджень щодо визначення цитотоксичності колоїдних дисперсій наночастинок міді (NPCu), заліза (NPFe), цинку (Zn), марганцю (NPMnO<sub>2</sub>), срібла (NPAg), золота (NPAu) та гексаціаноферрату кобальту (NPCo) у розмірно-концентраційному діапазоні в експериментах *in vitro* [6] доведено, що NPAg, NPCu, NPFe, NPMnO<sub>2</sub> є безпечними за відсутністю генотоксичною, мутагенної [7] та цитотоксичної дії [8], що стало підставою для складання композиційної суміші NPMe з метою подальших досліджень токсикологічних параметрів в експериментах *in vivo*.

Відомо, що печінка займає основне місце в регуляції обміну речовин і біотрансформації сполук, включаючи їх біотрансформацію та утилізацію. Багатогранність функцій печінки обумовлює специфі-

чну її уразливість під впливом ендо- і екзогенних факторів.

### 3. Мета та задачі дослідження

Мета дослідження – вивчення показників функціонального стану печінки в крові білих щурів за одноразового внутрішньошлункового введення суміші NPMe (Ag, Cu, Fe, MnO<sub>2</sub>) у діапазоні доз у порівнянні з сумішшю солей відповідних металів.

Для досягнення мети були вирішені наступні задачі:

1. Визначити рівень ключових показників інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), окиснювальної модифікації білків (ОМБ) та їх антиокиснювальної регуляції у плазмі крові щурів за одноразового введення суміші NPMe у діапазоні доз у порівнянні з сумішшю солей відповідних металів.

2. Вивчити рівень індикаторних метаболітів, що характеризують функціональний стан печінки, у плазмі крові щурів за одноразового введення суміші NPMe у діапазоні доз у порівнянні з сумішшю солей відповідних металів.

3. Дослідити активність гепатоспецифічних ферментів у плазмі крові щурів за одноразового введення суміші NPMe у діапазоні доз у порівнянні з сумішшю солей відповідних металів.

### 4. Матеріал і методи досліджень

У роботі використовували колоїдні дисперсії наступних NPMe: NPAg – ~30 нм з вихідною концентрацією 86,4 мкг/см<sup>3</sup>; NPFe – ~100 нм, 3174,0 мкг/см<sup>3</sup>; NPCu – ~70 нм, 2678,6 мкг/см<sup>3</sup>; двоокису NPMnO<sub>2</sub> – ~50 нм, 2785,0 мкг/см<sup>3</sup> за металом відповідно, які отримували методом хімічної конденсації шляхом відновлення відповідних солей металів у водному середовищі [9], що дозволяє отримувати стійкі водні дисперсії наночастинок певного розміру.

Суміш NPMe містила NPAg, NPFe, NPCu та NPMnO<sub>2</sub> у аліквотному співвідношенні з кінцевою концентрацією 100 мкг/см<sup>3</sup> за металом відповідно.

Як препарат – порівняння в дослідженнях використовували розчин суміші солей відповідних металів у іонній формі: AgNO<sub>3</sub>, (CuSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O), (MnSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O) і (FeSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O) у аліквотному співвідношенні з кінцевою концентрацією 100 мкг/см<sup>3</sup> за металом відповідно.

Дослідження були проведені за умов віварію та у лабораторії токсикологічного моніторингу відділу токсикології, безпеки та якості с.-г. продукції ННЦ «ІЕКВМ» на 144 статевозрілих щурах-самцях лінії *Vistar* масою 200–250 г. За принципом аналогів було сформовано 6 груп тварин по 24 щури у кожній (табл. 1).

Тваринам I і II дослідних груп вводили одно-разово внутрішньошлунково за допомогою зонду розчини суміші NPMe і солей відповідних металів у дозі 0,3 мг/кг маси тіла, III, IV і V дослідних груп –

NPMe у дозах, що перевищували рекомендовану біотичну дозу препарату в 3,3, 6,7 і 13,3 рази (1,0; 2,0 і 4,0 мг/кг маси тіла) відповідно.

Тваринам контрольної групи вводили за аналогічних умов за допомогою зонду 2 см<sup>3</sup>/щура фізіологічний розчин натрію хлориду (NaCl).

Для визначення рівня гематологічних і біохімічних показників крові у вищезазначені терміни досліджень (табл. 1) по 6 щурів з кожної групи декапітували за умов легкого хлороформного наркозу та відбирали зразки крові шляхом тотального знекровлення.

Таблиця 1

Схема експерименту з вивчення одноразового впливу суміші NPMe на організм білих щурів лінії *Vistar* (n=144)

Група тварин	Доза на кг маси тіла, мг/кг	Терміни дослідження, доба				
		1	3	7	14	
Контроль, n=24	NaCl, 2 см <sup>3</sup> на тварину	6	6	6	6	
Дослідні, n=24	I	NPMe, 0,3 мг/кг маси тіла	6	6	6	6
	II	Суміш солей Me, 0,3 мг/кг маси тіла	6	6	6	6
	III	NPMe, 1,0 мг/кг маси тіла	6	6	6	6
	IV	NPMe, 2,0 мг/кг маси тіла	6	6	6	6
	V	NPMe, 4,0 мг/кг маси тіла	6	6	6	6

Експериментальні дослідження на тваринах проводили з урахуванням основних принципів біоетики: утримання, догляд за тваринами та їх годівлю здійснювали згідно з нормами та раціонами, рекомендованими для даного виду лабораторних тварин. За період досліду тварини всіх груп мали вільний доступ до води [10, 11].

У плазмі крові дослідних тварин визначали рівень сечовини, креатиніну, білірубину та його фракцій, загальних ліпідів, загального холестеролу та активність аспартатамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1), аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2), лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1) і гамаглутамілтрансептідази (ГГТП, КФ 2.3.2.2) за використання наборів реактивів виробництва фірми «HUMAN» (Німеччина).

Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за рівнем утворення його продуктів, які визначали за методикою Гаврилова В. Б. і Мішкорудної М. І. [12] у гептан-ізопропанольних екстрактах за реєстрацією поглинання кон'югованих дієнових структур (ДК) за довжини хвилі 233 нм, враховуючи значення молярного коефіцієнту екстинції рівним  $(2,2 \cdot 10^5)$  і виражали у мкмоль/л, та ТБК-активних продуктів – за 247 нм, враховуючи питома поглинання в 1,0 мл і виражали у ΔД відповідно.

Інтенсивність окиснювальної модифікації білків (ОМБ) у плазмі крові визначали за утворенням карбоксильних похідних нейтрального (НХ) і основного характеру (ОХ) за методом Арчакова О. І. і Михосоева І. М. (1998) [13], який ґрунтується на здатності радикальних залишків аліфатичних амінокислот утворювати альдегідні й кетонні групи та 2,4-динітрофенілгідрозони. Вміст кетопохідних нейтрального характеру в плазмі крові визначали за

довжини хвилі 370 нм, а альдопохідних основного характеру – за 430 нм відповідно, враховуючи значення молярного коефіцієнту екстинції фенілгідрозонів рівним  $(2,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1})$ , та виражали у ммоль/г білка за 1 год.

Стан показників антиокиснювальної системи (АОС) досліджували за рівнем каталазної активності (КФ 1.11.1.6) з використанням H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> за довжини хвилі 410 нм, як описано в роботі Королюка М. О. [14]. Загальну АОА ліпідів плазми крові визначали, як описано в роботі Клебанова Г. І. [15].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета прикладних програм Microsoft Excel 2003 (for Windows XP) з використанням t-критерію Ст'юдента ( $p < 0,05$ ).

## 5. Результати досліджень

Значні перебудови у функціональному стані печінки дослідних щурів спостерігали з 1-ої доби експерименту. Встановлено, що одноразове введення суміші NPMe у максимальній дозі (4,0 мг/кг маси тіла) призводило до вірогідних зміни інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) за рівнем утворення його продуктів у крові дослідних щурів.

Так, з результатів, наведених у табл. 2, видно, що рівень ДК і ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів V групи знижувався ( $p \leq 0,05$ ), починаючи з 3-ої доби експерименту та до 14-ої доби включно. Так, через 14 діб після введення суміші NPMe рівень ДК і ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів у середньому складав 57,6 % і 75,4 % відповідно від контрольних значень цих показників (100 %) ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 2

Рівень інтенсивності процесів ПОЛ і ОМБ у плазмі крові щурів за одноразового введення суміші NPMe та суміші солей Me у дозовому діапазоні у динаміці 14 діб, M±m; n=6

№ п/п, група тварин	Термін дослідження, доба	Інтенсивність ПОЛ, продукти		Інтенсивність ОМБ, похідні	
		ДК, мкмоль/л	ТБК-активних продукти, ΔД	нейтрального характеру, ммоль/г білка	основного характеру, ммоль/г білка
К – Контроль	1	34,8±1,5	4,52±0,20	549,2±64,9	274,2±24,0
	3	31,5±0,5	3,88±0,06	647,4±34,1	308,5±18,1
	7	34,2±1,9	4,31±0,27	597,9±12,5	309,6±14,3
	14	38,2±2,2	5,40±0,67	539,3±31,9	272,2±26,9
I група – суміш NPMe <sup>1</sup> 0,3 мг/кг маси	1	33,70±0,5	4,34±0,09	541,1±25,7	257,7±5,6
	3	30,8±0,1	3,80±0,02	573,8±37,4	326,7±14,3
	7	29,5±2,4	3,77±0,25	523,7±41,7	280,7±16,7
	14	28,3±0,8 <sup>3</sup>	4,41±0,38	496,6±29,0	242,6±4,9
II група – суміш солей Me <sup>2</sup> 0,3 мг/кг маси	1	34,1±0,2	4,46±0,07	668,7±10,1*	275,8±11,5
	3	31,7±1,0	3,41±0,22	898,7±92,4*	407,1±26,2*
	7	31,2±1,5	4,09±0,06	744,2±40,9*	447,5±16,9*
	14	37,4±2,7	4,91±0,15	481,4±22,9	241,9±13,4
III група – суміш NPMe 1,0 мг/кг маси	1	35,6±1,0	4,64±0,10	720,0±21,3*	282,5±20,0
	3	28,4±1,4	3,46±0,29	869,2±71,4*	343,8±36,7
	7	29,3±0,4	3,82±0,20	812,8±36,6*	321,3±26,7
	14	33,3±2,3	4,68±0,20	697,0±33,3*	425,2±32,1*
IV група – суміш NPMe 2,0 мг/кг маси	1	33,6±0,1	4,35±0,03	676,1±36,0*	260,6±13,1
	3	30,1±0,8	3,98±0,15	684,7±40,4*	284,4±18,5
	7	29,1±0,3	3,57±0,55	935,1±36,6*	709,7±87,0*
	14	33,5±1,7	4,56±0,82	588,6±35,6	251,0±12,2
V група – суміш NPMe 4,0 мг/кг маси	1	35,1±0,7	4,54±0,11	771,7±56,8*	288,5±17,4
	3	18,0±0,6 <sup>3</sup>	2,29±0,05*	857,9±31,2*	298,4±22,5
	7	16,2±0,5*	2,14±0,12*	787,5±55,8*	398,5±25,4*
	14	28,8±3,4*	3,11±0,06*	539,3±31,9	272,2±26,9

Примітка: суміш NPMe – розчин суміші наночастинок металів; суміш солей Me – розчин суміші солей відповідних металів; \* – різниця значень вірогідна при (p≤0,05) відносно значень такого показника у контрольних тварин

Оскільки важливим стартовим чинником запуску механізмів окиснення біомолекул є радикали O<sub>2</sub>, визначальна регуляторна та прогностична роль в захисті мембран клітин відводиться АОС. Встановлено, що внаслідок потрапляння розчинів суміші металів у обох дисперсних формах у всьому

вивченому дозовому діапазоні в крові дослідних щурів (I–V групи) рівень каталазної–активності зростає та носить поступовий характер у динаміці 14 діб (табл. 3.). Причому, посилення активності цього ензиму є пропорційним величині введеної дози суміші NPMe.

Таблиця 3

Рівень показників АОС у плазмі крові щурів за одноразового введення суміші NPMe та суміші солей Me у дозовому діапазоні у динаміці 14 діб, M±m; n=6

№ п/п, група тварин	Термін дослідження, доба			
	1-ша	3-тя	7-ма	14-та
Каталазна активність, ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /сек мг білка				
К – Контроль	123,9±7,7	112,4±5,7	103,1±6,1	111,8±4,4
I група	160,1±7,1*	127,3±3,5*	142,2±2,3*	149,3±9,5*
II група	238,7±3,7*	209,4±3,5*	167,4±0,9*	165,5±6,6*
III група	179,4±3,6*	255,8±8,4*	237,3±10,5*	242,3±8,8*
IV група	189,2±11,2*	197,4±9,5*	211,0±2,8*	226,7±4,7*
V група	200,6±18,2*	264,2±6,4*	261,1±2,3*	267,3±10,5*
Загальна АОА, % інгібіції				
К – Контроль	64,58±4,69	71,88±5,13	68,10±4,08	61,37±4,55
I група	64,58±4,69	62,08±3,13	62,50±3,28	60,61±2,27
II група	41,68±6,24*	42,00±3,25*	54,17±1,56*	48,48±6,82*
III група	74,20±6,13	65,11±1,21*	37,67±3,28*	42,42±2,27*
IV група	64,06±1,69	45,83±4,69*	43,47±5,45*	42,43±6,81*
V група	52,08±6,25*	59,38±1,56*	57,90±1,68*	24,27±2,28*

Примітка: суміш NPMe – розчин суміші наночастинок металів; суміш солей Me – розчин суміші солей відповідних металів; \* – різниця значень вірогідна при (p≤0,05) відносно значень такого показника у контрольних тварин

Тоді як у плазмі крові тварин, що одержали суміш NPMe у діапазоні доз, значення каталазної активності з часом збільшувались, то в щурів, яким вводили розчин суміші солей металів, – знижувались, але були вірогідно більшими за її контрольний рівень. Так, на 14-ту добу досліду в крові щурів I, II, III, IV і V груп підвищення значень активності ензиму складало у середньому 25,7 %, 48,0 %, 116,7 %, 102,8 % і 139,1 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно відносно її контрольних значень.

Встановлено, що за умов введення суміші солей металів та NPMe у підвищених дозах (II, III, IV і V групи) в крові щурів реєстрували поступове витрачання ресурсів власної (ендогенної) АОА за зниженням показника % інгібування утворення ТБК-активних продуктів (табл. 3).

Вірогідні зміни загальної АОА у тварин II і V груп встановлювали вже через 1 добу, а III і IV груп – через 3 доби після введення суміші металів таким чином, що на 14-ту добу зниження цього показника дорівнювало 21,0 %, 30,9 %, 30,9 % і 60,4 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно відносно такого у контролі.

У дослідних тварин встановлювали інтенсифікацію процесів окиснювальної модифікації (деструкції) білків (ОМБ) за рівнем утворення карбоксильних

похідних НХ і ОХ (табл. 2). У плазмі крові щурів, що одержали розчини суміші солей металів і NPMe у дозах 2,0 і 4,0 мг/кг маси тіла (II, IV і V групи), визначали посилення процесів ОМБ до 7-ої, а у дозі 1,0 мг/кг маси тіла – до 14-ої доби експерименту ( $p \leq 0,05$ ).

Слід зазначити, що кількість основних субстратів для перекисного окиснення за вільнорадикальним механізмом – загальних ліпідів (ЗЛ) і загального холестеролу (ЗХС) – у крові дослідних тварин впродовж експерименту не зазнавала вірогідних змін у порівнянні з контрольними значеннями відповідних показників. Дані щодо вмісту ЗЛ і ЗХС в плазмі крові щурів усіх груп у динаміці 14 діб наведені в табл. 4.

Печінка здійснює важливу функцію у пігментному обміні – обміні білірубину: у ній частково синтезується вільний (некон'югований) білірубін, тут він поглинається, зв'язується (кон'югується) до прямого і виділяється в жовч.

Із результатів, наведених у табл. 4, видно, що внаслідок введення як розчину суміші солей металів, так й дослідного зразка NPMe у дозовому діапазоні, спостерігали помірне збільшення вмісту вільного і прямого білірубину в крові щурів з 7- по 14-ту добу експерименту.

Таблиця 4

Вміст загальних ліпідів, загального холестеролу та фракцій білірубину в плазмі крові щурів за одноразового введення суміші NPMe та суміші солей Me у дозовому діапазоні у динаміці 14 діб,  $M \pm m$ ;  $n=6$

№ п/п, група тварин	Термін дослідження, доба	ЗЛ, г/л	ЗХС, ммоль/л	Білірубін, мкмоль/л	
				Загальний	Прямий (кон'югований)
К – Контроль	1	3,08±0,31	3,89±0,17	4,43±0,25	1,30±0,13
	3	3,38±0,09	3,44±0,29	5,17±0,48	1,33±0,02
	7	4,08±0,41	4,02±0,16	4,87±0,15	1,36±0,05
	14	3,67±0,48	4,04±0,33	5,53±0,75	1,56±0,13
I група	1	2,35±0,27	3,97±0,02	3,80±0,20	1,43±0,20
	3	3,32±0,27	3,65±0,14	5,27±0,40	1,47±0,03
	7	3,63±0,10	4,07±0,06	5,13±0,38	1,43±0,10
	14	4,11±0,39	4,09±0,20	5,63±0,18	1,50±0,05
II група	1	2,58±0,12	4,24±0,06	3,87±0,28	1,53±0,23
	3	3,26±0,36	3,75±0,22	4,83±0,03	1,42±0,08
	7	4,20±0,27	3,95±0,30	7,40±0,17*	2,73±0,08*
	14	3,62±0,49	3,89±0,18	8,00±0,53*	3,20±0,33*
III група	1	3,50±0,36	3,87±0,26	4,00±0,30	1,20±0,10
	3	3,37±0,49	3,81±0,05	4,33±0,18	1,37±0,03
	7	2,96±0,54	4,14±0,22	7,43±0,58*	1,50±0,05*
	14	3,78±0,17	4,35±0,15	8,73±0,30*	3,97±0,18*
IV група	1	2,35±0,39	4,40±0,24	4,33±0,13	1,10±0,05
	3	3,10±0,08	3,73±0,31	4,87±0,05	1,43±0,13
	7	3,73±0,18	3,79±0,32	4,77±0,13	1,53±0,18
	14	3,59±0,26	4,01±0,18	9,37±0,15*	4,33±0,25*
V група	1	3,60±0,33	4,25±0,16	4,27±0,33	1,30±0,18
	3	3,44±0,27	3,55±0,27	4,37±0,28	1,33±0,03
	7	3,64±0,51	3,60±0,30	6,03±0,28	1,47±0,03
	14	3,85±0,44	3,84±0,04	9,20±0,70*	4,10±0,05*

Примітка: суміш NPMe – розчин суміші наночастинок металів; суміш солей Me – розчин суміші солей відповідних металів; \* – різниця значень вірогідна при ( $p \leq 0,05$ ) відносно значень такого показника у контрольних тварин

Так, на 14-ту добу спостереження зростання вмісту вільного і прямого білірубину в плазмі крові щурів II, III, IV та V груп складало 1,5 і 2,1, 1,6 і 2,5,

1,7 і 2,8 та 1,7 і 2,6 рази ( $p \leq 0,05$ ) відповідно відносно значень цих показників у контролі.

Дані, наведені у табл. 5, показують, що вміст глюкози у плазмі крові щурів, що одержали суміш NPMe у підвищених дозах, вірогідно змінювався на 1- та 3-тю добу експерименту. Так, у щурів, яким вводили суміш NPMe у дозі 4,0 мг/кг маси тіла, рівень глюкози підвищувався на 1-шу добу досліду в середньому на 33,9 %, а у дозах 1,0 і 2,0 мг/кг маси тіла – на 3-тю добу і складало 20,2 % і 15,3 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно відносно контрольного рівня показника.

Встановлено, що внутрішньошлункове задоволення суміші металів у обох дисперсних формах

сприяло посиленню сечовиноутворення в організмі тварин вже з 1-ої доби експерименту (табл. 5). Максимальне збільшення вмісту сечовини у плазмі крові щурів II–V груп фіксували на 3-тю добу, що залишалося вірогідним у тварин IV і V груп до 14-ої доби досліду включно та складало 21,8 % і 28,3 % відповідно за контрольні значення.

Результати досліджень вказують, що одноразове введення суміші розчинів металів у обох дисперсних формах не справляло статистичних змін рівня показника ще одного кінцевого продукту розкладу білків – креатиніну.

Таблиця 5

Вміст глюкози, сечовини та креатиніну в плазмі крові щурів за одноразового введення суміші NPMe та суміші солей Me у дозовому діапазоні у динаміці 14 діб,  $M \pm m$ ;  $n=6$

№ п/п, група тварин	Термін дослідження, доба			
	1-ша	3-тя	7-ма	14-та
Глюкоза, ммоль/л				
К – Контроль	6,97±0,30	7,43±0,58	7,23±0,18	7,23±0,33
I група	6,67±0,15	6,63±0,08	6,27±0,40	7,50±0,38
II група	6,90±0,38	7,63±0,23	6,47±0,18	7,23±0,20
III група	6,93±0,18	8,93±0,43*	6,47±0,35	6,97±0,30
IV група	7,43±0,18	8,57±0,38*	6,27±0,13	8,17±0,73
V група	9,33±0,38*	7,47±0,50	7,17±0,45	7,43±0,30
Сечовина, ммоль/л				
К – Контроль	11,43±0,58	11,17±0,73	12,02±0,13	12,23±0,30
I група	13,63±0,80	13,97±0,78	11,74±0,48	12,62±0,28
II група	14,63±1,23*	14,50±0,58*	14,11±0,58*	12,81±0,10
III група	14,86±0,58*	14,33±0,35*	11,23±0,62	14,51±0,24
IV група	11,74±0,85	13,17±0,53*	14,24±0,63*	14,90±0,43*
V група	14,05±0,40*	14,66±0,76*	15,90±1,43*	15,69±0,51*
Креатинін, мкмоль/л				
К – Контроль	199,10±4,48	189,37±4,48	210,30±13,90	200,8±12,0
I група	189,70±4,93	198,8±13,4	192,80±5,68	212,2±7,6
II група	210,00±4,95	173,40±6,58	202,00±8,20	198,4±14,2
III група	202,20±1,88	202,2±12,8	220,70±15,75	216,0±15,4
IV група	195,60±3,17	228,0±16,2	213,20±10,35	222,2±16,8
V група	213,80±4,25	228,50±3,30	233,50±15,53	217,5±14,0

Примітка: суміш NPMe – розчин суміші наночастинок металів; суміш солей Me – розчин суміші солей відповідних металів; \* – різниця значень вірогідна при ( $p \leq 0,05$ ) відносно значень такого показника у контрольних тварин

Токсичні ураження печінки супроводжуються порушенням молекулярної організації мембран гепатоцитів і функціонування мембранозв'язаних ензимів ендоплазматичного ретикулуму, а зростання їх активності у крові є пропорційним ступеню руйнування гепатоцитів і інтенсивності патологічного процесу [16].

У табл. 6 наведені результати визначення активності основних гепатоспецифічних ензимів щурів у динаміці експерименту. Встановлено, що починаючи з 1- та до 14-ої доби включно у плазмі крові тварин, які одержали суміш NPMe у дозах 1,0, 2,0 і 4,0 мг/кг маси тіла, активність АлАТ знижувалась, а АсАТ – збільшувалась ( $p \leq 0,05$ ), відносно рівня активності цих ензимів у контрольних тварин.

Активність ще одного ферменту із «золотого стандарту» індикаторів детоксикаційної функції печінки – ГГТП – також збільшувалась за значенням впродовж 7 діб досліду в крові щурів, що одержали

суміш NPMe лише у дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла, в середньому на 62,4 % і 43,5 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно від контрольних значень. На 14-ту добу експерименту значення активності ГГТП нормалізувались до контрольного рівня ензиму.

У плазмі крові щурів II і III дослідних груп спостерігали вірогідне підвищення активності ЛФ через 7–14 і 3–7 діб після введення розчинів суміші металів у біотичній дозі та суміші NPMe у дозі 1,0 мг/кг маси тіла в середньому на 44,7 % та 22,8 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно у порівнянні з її контрольним рівнем.

Але у плазмі крові щурів, що одержали NPMe у максимальній дозі (4,0 мг/кг маси тіла), з 3- по 14-ту добу досліду реєстрували пригнічення активності цього ферменту, що на 14-ту добу складало у середньому 21,7 % ( $p \leq 0,05$ ) відносно контрольного рівня показника.

Таблиця 6

Активність гепатоспецифічних ферментів у плазмі крові щурів за одноразового введення суміші NPMe та суміші солей Me у дозовому діапазоні у динаміці 14 діб,  $M \pm m$ ;  $n=6$

№ п/п, група тварин	Термін дослідження, доба	АлАТ, мкмоль/год мл	АсАТ, мкмоль/год мл	ГГТП, ммоль/год л	ЛФ, нмоль/сек л
К – Контроль	1	1,49±0,24	1,18±0,06	2,68±0,12	2114,2±150,0
	3	1,41±0,05	1,33±0,04	2,70±0,14	2415,3±108,2
	7	1,38±0,01	1,21±0,05	2,55±0,11	2157,7±26,2
	14	1,37±0,05	1,23±0,05	2,37±0,08	2163,5±154,2
I група	1	1,83±0,34	1,21±0,08	2,50±0,29	1956,4±131,2
	3	1,69±0,06	1,45±0,06	3,05±0,11	2165,1±45,0
	7	1,77±0,01	1,37±0,06	3,11±0,17	2047,0±32,1
	14	1,55±0,05	1,39±0,08	2,35±0,18	2037,2±173,4
II група	1	1,43±0,04	1,39±0,18	2,90±0,31	2627,4±193,2
	3	1,47±0,07	1,61±0,08	3,18±0,12	2294,7±32,1
	7	1,34±0,03	1,58±0,02	2,91±0,18	3253,2±83,5*
	14	1,27±0,04	1,58±0,04	2,44±0,08	2997,3±89,9*
III група	1	1,17±0,03*	1,67±0,10*	3,43±0,18*	2415,3±218,9
	3	1,13±0,05*	1,68±0,04*	3,28±0,12*	2825,0±70,7*
	7	1,22±0,01*	1,58±0,04*	4,14±0,09*	2772,1±18,2*
	14	0,96±0,05*	1,98±0,13*	2,62±0,22	2012,7±39,0
IV група	1	1,10±0,08*	1,69±0,08*	2,82±0,24	2276,6±205,5
	3	0,90±0,05*	1,83±0,15*	3,16±0,21	2328,3±115,6
	7	0,85±0,03*	2,12±0,06*	2,61±0,07	2106,3±160,6
	14	1,04±0,04*	2,06±0,07*	2,51±0,02	1960,1±77,1
V група	1	0,98±0,08*	1,81±0,08*	3,55±0,02*	2068,7±111,3
	3	1,08±0,05*	1,75±0,03*	3,68±0,10*	1960,1±39,2*
	7	1,00±0,03*	2,17±0,06*	3,66±0,09*	1583,3±134,9*
	14	0,96±0,05*	1,98±0,13*	2,62±0,22	1693,4±57,6*

Примітка: суміш NPMe – розчин суміші наночастинок металів; суміш солей Me – розчин суміші солей відповідних металів; \* – різниця значень вірогідна при ( $p \leq 0,05$ ) відносно значень такого показника у контрольних тварин

Таким чином, підсумовуючи отримані результати, слід зауважити, що зміни показників функціонального стану печінки щурів, були більш вираженими в крові щурів, яким вводили суміш NPMe у дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла, до 14-ої доби дослідження включно, що вказує на прояв гепато- і кардіотоксичної дії та вибірккову дозову тропність наночастинок.

#### 6. Обговорення результатів дослідження

Дослідження біосумісності наночастинок металів в гострому токсикологічному експерименті на білих щурах показало, що за одноразового внутрішнього шлунокового введення суміші NPMe у дозах 1,0, 2,0 і 4,0 мг/кг маси тіла в організмі тварин встановлено її гепатотоксичну дію, яка носить виражений дозозалежний характер. За підсумком отриманих результатів можна зробити висновок, що механізми гепатотоксичної дії суміші NPMe у дозах 1,0, 2,0 і 4,0 мг/кг маси тіла полягають у формуванні окиснювального стресу в організмі тварин, що супроводжуються підвищенням ензиматичної активності ~~ензимів~~ індикаторних АсАТ і ГГТП та каталазної активності, пригніченням АлАТ, ЛФ і загальної АОА ( $p \leq 0,05$ ). Посилення сечовиноутворення поряд із збільшенням рівня глюкози ( $p \leq 0,05$ ) в плазмі крові щурів, які отримували суміш NPMe у підвищених дозах, вказує на очевидну інтенсифікацію процесів елімінації наночастинок, та яка прямо пропорційно залежить від часу надходження та енергетичного забезпечення тварин.

Визначені зміни біохімічних показників у крові щурів, які одержали суміш NPMe у дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла, не мали зворотної динаміки до кінця експерименту, що свідчить про вибірккову токсичність наночастинок.

Отже, внаслідок суміші NPMe у дозах 1,0, 2,0 і 4,0 мг/кг та суміші солей металів у дозі 0,3 мг/кг маси тіла потенціалу ендогенної АОС виявилось недостатньо для запобігання впливу АМК і відповідного включення протективних механізмів, що супроводжувалось індукцією каталазної активності, витрачанням пулу ендогенних антиоксидантів та посиленням генерації рівня карбоксильних похідних ОМБ ( $p \leq 0,05$ ) у крові щурів. Стабільний рівень продуктів ліпопероксидації в крові щурів дослідних груп можна пояснити тим, що окиснювальні форми білків модифікуються за рахунок продуктів ПОЛ через протеолітичні системи та індукцію фактору транскрипції в Т-лімфоцитах, тобто деградовані протеїни можуть знаходитися в клітинах декілька годин і навіть діб, а продукти ПОЛ піддаються детоксикації вже через декілька хвилин [17].

Дослідження *in vitro* показують, що наночастинок можуть генерувати активні метаболіти кисню, які руйнують ендогенні антиоксиданти [18], змінюють функції мітохондрій і сприяють окисному пошкодженню ліпідів і ДНК через інгібіцію активності Na, K і Ca, Mg – АТФаз плазматичної мембрани, зниження її текучості та зменшення пулу глутатіону і активності індукційної NO-синтази [19]. Природу

цих властивостей можна пояснити тим, що міцела колоїдної наночастинки металу, яка має потенціал утворюючу оболонку з розвиненою питомою поверхнею, має слабо негативний заряд, що дозволяє наночастинкам проявляти високу адсорбційну і каталітичну активність до різного роду метаболітів навколо і усередині клітинної мембрани [20], ґрунтується на механізмі рецептор опосередкованого ендозитозу та фізико-хімічного зв'язування NPMe функціональними групами компонентів клітинної мембрани, зокрема карбоксильних COOH та тіолових SH [21].

У подальшому механізми цитотоксичної дії наночастинок полягають у їх внутрішньоклітинному трансцитозі в мітохондріях [22], який активує внутрішньоклітинний окиснювальний стрес і експресію гена, інгібіцію ферментів дихального ланцюга, роз'єднання процесів окиснення і окиснювального фосфорилування, що призводить до загибелі клітини [23, 24].

Концентрація вільного білірубину зростає внаслідок порушення здатності уражених гепатоцитів поглинати і кон'югувати білірубін, а зв'язаного (прямого) – через те, що енергетичні можливості гепатоцитів недостатні для виведення білірубину до жовчних каналців. Оскільки функціональні можливості печінки забезпечують перетворення і виділення білірубину в (5 – 7) разів більше (20–35 мкмоль/л загального білірубину), ніж за фізіологічних умов, діагностичне значення дослідження вмісту білірубину за вивченої нами моделі дозового навантаження NPMe є недостатньо показовим. Однак, характер змін активності гепатоспецифічних ензимів у крові дослідних щурів може мати діагностичне значення за даної моделі впливу композиційної суміші NPMe у підвищених дозах, та є наслідком ураження функціонально-структурного стану паренхіматозних клітин [25].

Так, визначене нами значне зростання ензиматичної активності АсАТ і ГГТП без подальшого адаптивного зниження в крові щурів, які отримали суміш NPMe у дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла, вказує на гепатотоксичну дію наночастинок, оскільки за порушення цілісності печінки ензими, локалізовані в цитоплазмі і мітохондріях гепатоцитів, потрапляють у плазму крові [26, 27]. Поряд з цим, вивільнення у плазму крові тварин АсАТ пов'язують із розвитком кардіопатій.

Тобто, активність індикаторних печінкових ензимів поряд із розвитком окиснювального стресу – важливі проміжні точки, які можуть бути адекватними біохімічними маркерами в дослідженнях токсичної дії та/або біосумісності наночастинок [28, 29].

За відсутністю прооксидантної дії та регуляцією показників стану АОС в організмі щурів доведено, що суміш NPMe у дозі 0,3 мг/кг маси тіла є біосумісною та справляє адаптогенну дію у порівнянні з солями відповідних металів, тобто колоїдні дисперсії наночастинок есенційних металів можна розглядати як перспективну субстанцію лікарських засобів і компоненти кормових добавок. Як опосередковано, так й напряду через процеси нормалізації вільнорадикального окиснення активно блокується цитолітичний синдром [18, 30, 31]. У цьому випадку NPMe і NPAg виступають антиоксидантами та їх можна вважати біосумісними та мембранотропними.

Згідно теорії вільнорадикального механізму ліпопероксидації та окисної деструкції протеїнів біомембран, розвиток ланцюгових реакцій під дією будь-якого чинника відбувається на фоні ураження природної АОС. Дійсно, біологічна дія NPMe пов'язана з регуляторним впливом на систему антиокиснювального захисту мембран клітин. Так, визначене нами посилення каталазної активності поряд із фізіологічними значеннями рівня загальної АОА у випадку впливу суміші NPMe у дозі 0,3 мг/кг, можна розглядати як індукцію структурних ендогенних антиоксидантів (аскорбат, SH-групи, GSH, церулоплазмін, цитохром, металотіонеїни тощо) так й ферментативної ланки АОС. При цьому витрачання потужності АО-ферментів може частково компенсуватися пулом неферментативної ланки АОС. Відомо, що через високий вміст сульфгідрильних нуклеофільних груп металотіонеїни здатні реагувати з електрофільними субстанціями, такими як іони металів і вільні радикали [32, 33]. Можна припустити, що в результаті зв'язування з функціональними групами металотіонеїнів іонів металів, які в процесі біотрансформації вивільнилися із міцели колоїдної наночастинки, гіпотетично токсичність цих металів зменшується, тоді як незв'язані – можуть вступати в інші взаємодії та акумулюватися клітинами та їх структурами, які визначають їх біосумісність (у даному випадку – антиоксидантні властивості) або токсичність (прооксидантні властивості).

Отже, слід зауважити, що важливим є не лише вивчення питань потенційної небезпечності наночастинок та інших продуктів нанотехнологій, а й розробка системних критеріїв оцінювання їх безпеки для здоров'я тварин і людей, яким можуть стати біохімічні і токсикологічні маркери тестування.

## 7. Висновки

1. Встановлено, що суміш NPMe за одноразового внутрішньо шлункового введення білим щурам у дозах 1,0, 2,0 і 4,0 мг/кг та суміші солей металів у дозі 0,3 мг/кг маси тіла проявляють гепатотоксичну дію, яка носить виражений дозозалежний характер.

2. Механізм гепатотоксичної дії суміші NPMe у дозах 1,0, 2,0 і 4,0 мг/кг маси тіла полягають у формуванні окиснювального стресу в організмі тварин, що супроводжуються підвищенням ензиматичної активності індикаторних АсАТ і ГГТП та каталазної активності, пригніченням АлАТ, ЛФ і загальної АОА ( $p \leq 0,05$ ). Посилення сечовиноутворення поряд із збільшенням рівня глюкози ( $p \leq 0,05$ ) в плазмі крові щурів, які отримували суміш NPMe у підвищених дозах, вказує на очевидну інтенсифікацію процесів елімінації наночастинок, та яка прямо пропорційно залежить від часу надходження та енергетичного забезпечення тварин.

3. За відсутністю прооксидантної дії та регуляцією показників стану АОС в організмі щурів доведено, що суміш NPMe у дозі 0,3 мг/кг маси тіла є біосумісною та справляє адаптогенну дію у порівнянні з солями відповідних металів, тобто колоїдні дисперсії наночастинок есенційних металів можна розглядати як перспективну субстанцію лікарських засобів і компоненти кормових добавок.

## Література

1. Наноматериалы и нанокompозиты в медицине, биологии и экологии [Текст] / под ред. А. П. Шпака, В. П. Чехуна. – Киев: Наукова думка, 2011. – 444 с.
2. Багатофункціональні наноматеріали для біології і медицини: молекулярний дизайн, синтез і застосування [Текст] / за ред. Р. С. Стойки. – Київ: Наукова думка, 2017. – 361 с.
3. Чекман, І. С. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація [Текст] / І. С. Чекман, З. Р. Ульберг, В. О. Маланчук, Н. О. Горчакова, І. А. Зупанець. – Київ: Поліграф плюс, 2012. – 327 с.
4. Pat. No. 20040116551 A1 US. Antimicrobial compositions containing colloids of oligodynamic metals. IPC C08K 3/10, C08K 3/00 [Text] / Terry R. N. – No. US10/649,595; declared: 26.08.2003; published: 17.06.2004. – 35 p. – Available at: <https://www.google.com/patents/US20040116551>
5. Shukla, R. Biocompatibility of Gold Nanoparticles and Their Endocytotic Fate Inside the Cellular Compartment: A Microscopic Overview [Text] / R. Shukla, V. Bansal, M. Chaudhary, A. Basu, R. R. Bhonde, M. Sastry // *Langmuir*. – 2005. – Vol. 21, Issue 23. – P. 10644–10654. doi: 10.1021/la0513712
6. Rieznichenko, L. S. Metal nanoparticles: synthesis, properties, and application in medicine and veterinary [Text] / L. S. Rieznichenko, T. G. Gruzina, S. N. Dybkova, Z. R. Ulberg, M. E. Roman'ko, V. A. Ushkalov, I. S. Chekman // *Mediateranean-East-Europe Meeting Multifunctional Nanomaterials: NanoEuroMed 2011*. – Uzhgorod, 2011. – P. 60–61. – Available at: [http://www.nanoeuromed.ferroix.net/home/NanoEuroMed\\_Abstracts.pdf?attredirects=0&d=1](http://www.nanoeuromed.ferroix.net/home/NanoEuroMed_Abstracts.pdf?attredirects=0&d=1)
7. Дибкова, С. М. Оцінка генотоксичності та мутагенності наночастинок металів, перспективних компонентів ветеринарних нанонутрицевтиків [Текст] / С. М. Дибкова, М. Є. Романько, Л. С. Резніченко, Т. Г. Грузина, З. Р. Ульберг, В. О. Ушкалов, О. Т. Куцан // *Ветеринарна біотехнологія*. – 2011. – № 19. – С. 61–69.
8. Головка, А. М. Оцінювання та контролювання біологічної безпеки наноматеріалів у ветеринарній медицині [Текст] / А. М. Головка, В. О. Ушкалов, Л. С. Резніченко, М. Є. Романько, Т. Г. Грузина, С. М. Дибкова, З. Р. Ульберг // *Вісник аграрної науки*. – 2011. – № 5. – С. 24–28. – Режим доступу: <http://agrovisnyk.org.ua/ua/old-archive/issue-5-2011>
9. Методические разработки к практикуму по коллоидной химии [Текст] / под ред. А. В. Перцова. – Москва: Издательство Московского университета, 1976. – 132 с.
10. Западнюк, И. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте [Текст] / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – 3-е изд., перераб. и доп. – Киев: Вища школа, 1983. – 383 с.
11. Коцюмбас, І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів [Текст] / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега, О. Л. Тішин, Ю. М. Косенко. – Львів: Тріада плюс, 2005. – 360 с.
12. Гаврилов, В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови [Текст] / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // *Лабораторное дело*. – 1983. – № 3. – С. 33–36.
13. Арчаков, А. И. Модификация белков активным кислородом и их распад [Текст] / А. И. Арчаков, И. М. Михосоев // *Биохимия*. – 1998. – Т. 54, № 2. – С. 179–186. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18235623>
14. Королюк, М. А. Метод определения активности каталазы [Текст] / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лабораторное дело*. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
15. Клебанов, Г. И. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов [Текст] / Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин, О. С. Комаров, Ю. А. Владимиров // *Лабораторное дело*. – 1988. – № 5. – С. 59–62.
16. De Bono, D. P. Free radicals and antioxidants in vascular biology: the roles of reaction kinetics, environment and substrate turnover [Text] / D. P. de Bono // *QJM: An International Journal of Medicine*. – 1994. – Vol. 87, Issue 8. – P. 445–453. doi: 10.1093/oxfordjournals.qjmed.a068954
17. Старикович, Л. С. Исследование прогностической роли активности энзимов антиоксидантной защиты в окислительной модификации белков после действия низкоинтенсивного ионизирующего излучения [Текст] / Л. С. Старикович, Л. А. Дацюк, У. В. Старанко, Н. И. Клымышин, А. В. Трикуленко, Г. Я. Клевета, М. Е. Вытычак, Р. С. Стойка // *Лабораторная диагностика*. – 2008. – № 1. – С. 57–60.
18. Oyelere, A. Gold nanoparticles: From nanomedicine to nanosensing [Text] / A. Oyelere // *Nanotechnology, Science and Applications*. – 2008. – Vol. 1. – P. 45–66. doi: 10.2147/nsa.s3707
19. Sahoo, S. K. The present and future of nanotechnology in human health care [Text] / S. K. Sahoo, S. Parveen, J. J. Panda // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. – 2007. – Vol. 3, Issue 1. – P. 20–31. doi: 10.1016/j.nano.2006.11.008
20. Naumenko, A. M. Molecular docking of nanosized titanium dioxide material to the extracellular part of GABAB-receptor [Text] / A. M. Naumenko, A. Yu. Nyporko, O. V. Tsybalyuk, N. Ye. Nuryshchenko, I. S. Voitshenko, T. L. Davidovska // *Studia Biologica*. – 2016. – Vol. 10, Issue 3-4. – P. 5–16. – Available at: <http://publications.lnu.edu.ua/journals/index.php/biology/article/view/24>
21. Dukhin, A. S. Peculiarities of live cells' interaction with micro- and nanoparticles [Text] / A. S. Dukhin, Z. R. Ulberg, V. I. Karamushka, T. G. Gruzina // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2010. – Vol. 159, Issue 1. – P. 60–71. doi: 10.1016/j.cis.2010.05.004
22. Singh, B. N. Antimicrobial nanotechnologies: what are the current possibilities? [Text] / B. N. Singh, Prateeksha, Ch. V. Rao, A. K. S. Rawat, D. K. Upreti, B. R. Singh // *Current Science*. – 2015. – Vol. 108, Issue 7. – P. 1210–1213. – Available at: <http://www.currentscience.ac.in/Volumes/108/07/1210.pdf>
23. Johnston, H. J. A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: Particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity [Text] / H. J. Johnston, G. Hutchison, F. M. Christensen, S. Peters, S. Hankin, V. Stone // *Critical Reviews in Toxicology*. – 2010. – Vol. 40, Issue 4. – P. 328–346. doi: 10.3109/10408440903453074



24. Rezaeinejad, S. Heterogeneity of Escherichia coli population by respiratory activity and membrane potential of cells during growth and long-term starvation [Text] / S. Rezaeinejad, V. Ivanov // Microbiological Research. – 2011. – Vol. 166, Issue 2. – P. 129–135. doi: 10.1016/j.micres.2010.01.007
25. Rosenberger, G. Die klinische Untersuchung des Rindes [Text] / G. Rosenberger; G. Dirksen, H. D. Gründer, M. Stöber (Eds.). – 3 Aufl. – Berlin; Hamburg: Paul Parey, 1990. – P. 367–385.
26. Joshi, M. Cancer chemotherapy and hepatotoxicity: an update [Text] / M. Joshi, K. S. Sodhi, R. Pandey et. al. // IndoAmerican J. of Pharm. Research. – 2014. – Vol. 4, Issue 6. – P. 2976–2984.
27. Ramadori, G. Effects of systemic chemotherapy on the liver [Text] / G. Ramadori, S. Cameron // Annals of Hepatology. – 2010. – Vol. 9, Issue 2. – P. 133–143.
28. Møller, P. Role of oxidative damage in toxicity of particulates [Text] / P. Møller, N. R. Jacobsen, J. K. Folkmann, P. H. Danielsen, L. Mikkelsen, J. G. Hemmingsen et. al. // Free Radical Research. – 2009. – Vol. 44, Issue 1. – P. 1–46. doi: 10.3109/10715760903300691
29. Фальфушинська, Г. І. Функції металотіонеїнів та системи антиоксидантного захисту за дії Со- та Zn-вмісних нанокompatивів на карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio*) [Текст] / Г. І. Фальфушинська, Л. Л. Гнатишина, О. О. Турта, О. Б. Столяр, Н. Є. Мітіна, О. С. Заїченко, Р. С. Стойка // Український біохімічний журнал. – 2013. – Т. 85, № 3. – С. 52–61. doi: 10.15407/ubj85.03.052
30. Cornejo-Garrido, H. Oxidative stress, cytotoxicity, and cell mortality induced by nano-sized lead in aqueous suspensions [Text] / H. Cornejo-Garrido, D. Kibanova, A. Nieto-Camacho, J. Guzmán, T. Ramírez-Apan, P. Fernández-Lomelín et. al. // Chemosphere. – 2011. – Vol. 84, Issue 10. – P. 1329–1335. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.018
31. Jia, H. Y. Potential Oxidative Stress of Gold Nanoparticles by Induced-NO Releasing in Serum [Text] / H. Y. Jia, Y. Liu, X. J. Zhang, L. Han, L. B. Du, Q. Tian, Y. C. Xu // Journal of the American Chemical Society. – 2009. – Vol. 131, Issue 1. – P. 40–41. doi: 10.1021/ja808033w
32. Stoliar, O. B. Metallothionein of aquatic animals as a biomarker: coverage of vulnerability [Text] / O. B. Stoliar, H. I. Falfushynska // Global Journal of Environmental Science and Technology. – 2012. – Issue 2. – P. 5. – Available at: <http://www.cognizure.com/abstract.aspx?p=104637226>
33. Sutherland, D. E. K. Noncooperative Metalation of Metallothionein 1a and Its Isolated Domains with Zinc [Text] / D. E. K. Sutherland, K. L. Summers, M. J. Stillman // Biochemistry. – 2012. – Vol. 51, Issue 33. – P. 6690–6700. doi: 10.1021/bi3004523

*Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Лиманська О. Ю.  
Дата надходження рукопису 30.10.2017*

**Романько Марина Євгенівна**, кандидат біологічних наук, Відділ токсикології, безпеки та якості сільськогосподарської продукції ННЦ «ІЕКВМ», Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН, вул. Пушкінська, 83, м. Харків, Україна, 61083  
E-mail: marina\_biochem@ukr.net