

ВПЛИВ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ ЦИНКУ ТА ГЕРБІЦИДУ ГЛІФОСАТУ НА СТАН ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ

Вступ. Нанотехнології є на сьогодні найбільш перспективним напрямком у розвитку світової науки. Наноматеріали стали причиною справжнього прориву в багатьох галузях і проникають у всі сфери нашого життя. Наночастинки, завдяки їх унікальним властивостям, широко застосовують у наукових дослідженнях, промисловості та медицині. З повсякденним зростанням темпів використання наноматеріалів усе менше уваги приділяють можливому негативному впливу наночастинок на здоров'я людей та на безпеку навколишнього середовища в цілому. Характерна для наночастинок здатність посилювати транспорт хімічних речовин і лікарських засобів у клітини та через бар'єри організму робить актуальним питання про можливість потенціювання токсичної дії хімічних контамінантів при їх сумісному надходженні в організм.

Мета дослідження – вивчити особливості комбінованого впливу наночастинок оксиду цинку та гербіциду гліфосату на стан гуморальної ланки імунної системи експериментальних щурів.

Методи дослідження. Досліди виконано на щурах-самцях, яким внутрішньошлунково протягом 14 днів вводили у вигляді суспензії (0,5 мл) наночастинки оксиду цинку в дозі 100 мг/кг маси тала та гліфосат (у формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла. Токсиканти вводили сумісно та окремо. Тварин виводили з експерименту на 15-ту добу. В сироватці крові визначали вміст циркулюючих імунних комплексів та імуноглобулінів класів А, М, G.

Результати й обговорення. Встановлено, що під впливом наночастинок оксиду цинку досліджувані показники достовірно не відрізнялися від показників контролю. Введення щурам гліфосату призводило до виражених змін імуноглобулінів класу G та циркулюючих імунних комплексів. Максимальні зміни показників зареєстровано у групі тварин, яким вводили наночастинки оксиду цинку сумісно з гліфосатом. У цьому випадку показники вмісту імуноглобулінів та циркулюючих імунних комплексів достовірно погіршувалися порівняно з аналогічними показниками у групі тварин, яким вводили тільки гербіцид.

Висновок. Наночастинки оксиду цинку посилюють здатність гербіциду гліфосату викликати зміни гуморальної ланки імунної системи білих щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: наночастинки оксиду цинку; гліфосат; імуноглобуліни.

ВСТУП. Нанотехнології – сфера, яка стрімко розвивається, і її вважають однією з ключових технологій XXI ст. Обсяг цієї багатопрофільної технологічної галузі коливається від повсякденних споживчих товарів у харчовій та косметичній промисловості до передових медичних засобів [1]. Нанотехнології є на сьогодні найбільш перспективним напрямком у розвитку світової науки [2]. Сотні найменувань продуктів з використанням наноматеріалів упевнено ввійшли в усі сфери життєдіяльності людини.

Одним із пріоритетних видів наноматеріалів є наночастинки оксиду цинку (нано-ZnO), які використовують у всезростаючих масштабах у

різних сферах життєдіяльності. Наночастинки оксиду цинку найчастіше застосовують у виробництві різноманітної косметики, включаючи зубну пасту і засоби для догляду за шкірою. Вони мають ряд унікальних фізико-хімічних властивостей, для них, зокрема, характерні широкий діапазон поглинання випромінювання та висока фотостабільність, що робить їх ідеальним інгредієнтом для сонцезахисних засобів [3, 4]. Крім того, використання ZnO в медицині дуже перспективне через його протизапальний, антимікробний та протигрибковий потенціал. Ключовою можливістю наночастинок оксиду цинку стосовно застосування їх у медицині є те, що вони здатні проникати в незміненому вигляді через

клітинні бар'єри і тому відіграють роль переносників різних молекул, необхідних для лікування та діагностики.

Оксид цинку, як матеріал із привабливими властивостями, викликав великий інтерес у всьому світі, однак досі не вистачає точних даних про потенційні фактори ризику, пов'язані з впливом наноксиду цинку. Відомості щодо токсичності нано-ZnO вельми суперечливі [4–7].

Потенційна небезпека наноматеріалів зумовлена насамперед унікальними особливостями їх поведінки в нанорозмірному стані: зростання хімічного потенціалу речовин на міжфазному кордоні високої кривизни призводить до суттєвих змін розчинності, реакційної і каталітичної здатності наночастинок та їх компонентів; велика питома поверхня наночастинок збільшує їх адсорбційну ємність, хімічну реакційну спроможність і каталітичні властивості, спричиняє збільшення продукції вільних радикалів та активних форм кисню і далі ушкодження біологічних структур – ліпідів, протеїнів, нуклеїнових кислот та ДНК, саме таким, за сучасними даними, є механізм токсичної дії наночастинок; через малий розмір наночастинок можуть не розпізнаватися захисними системами організму, вони не піддаються біотрансформації і не виводяться з організму, різноманітність форм наночастинок дає їм можливість зв'язуватися з нуклеїновими кислотами, протеїнами, вбудовуватися в мембрани, проникати в клітинні органели і тим самим змінювати функції біоструктур; через свою високорозвинену поверхню наночастинок можуть сорбувати органічні та неорганічні сполуки, здатні поглинати на одиницю своєї маси в багато разів більше адсорбованих речовин (іонів важких металів, отрутохімікатів, радіонуклідів), ніж аналогічні макроскопічні дисперсії, тому можуть бути носіями великого числа токсинів, у результаті стає можливим посилення транспорту всередину клітини разом із наночастинками цих отрут, що різко посилює їх і без того високу токсичність [5, 6, 8, 9].

До небезпечних речовин антропогенного походження, що надходять у навколишнє середовище, також належать гербіциди. Обсяг цих біологічно активних та частіше високотоксичних для людини і тварин речовин, які використовують щорічно у світовій практиці, нині досягає понад 2 млн т. Одним із найпоширеніших у світі гербіцидів є гліфосат. Препарати на його основі застосовують більше ніж у 130 країнах [10]. Проте, попри надзвичайно широке використання, до безпеки гліфосату для здоров'я людини залишається ряд запитань.

Тому, враховуючи інтенсивний розвиток нанотехнологій і, зокрема, широке використання

нано-ZnO в різних галузях промисловості, необхідно дослідити як їх безпосередній токсичний вплив на біологічні системи, так і механізм їх дії при сумісному застосуванні з найбільш поширеними хімічними речовинами.

Мета дослідження – вивчити особливості комбінованого впливу наночастинок оксиду цинку та гербіциду гліфосату на стан гуморальної ланки імунної системи експериментальних щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експериментах використовували безпородних щурів-самців масою 160 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Інтоксикацію у тварин моделювали шляхом щоденного внутрішньошлункового введення їм упродовж 14 діб у вигляді суспензії (0,5 мл) наночастинок оксиду цинку в дозі 100 мг/кг маси тіла і гліфосату (в формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла. Токсиканти вводили сумісно та окремо. Як контроль використовували інтактних тварин, яким вводили питну воду.

Диспергування наночастинок у воді чи розчині гліфосату проводили за допомогою ультразвукового диспергатора УЗДН-М750Т (20–25 кГц, 750 Вт) протягом 5 хв.

Усіх піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні (контрольні); 2-га – щури, яким вводили наночастинок оксиду цинку; 3-тя – тварини, уражені гліфосатом; 4-та – щури, яким сумісно вводили наночастинок оксиду цинку та гліфосат. Тварин виводили з експерименту на 15-ту добу під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг маси тіла щура). Стан гуморального імунітету оцінювали за вмістом у сироватці крові циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [11] та імуноглобулінів (Ig) класів А, М, G, який визначали методом твердофазового імуноферментного аналізу, використовуючи набори реагентів "eBioscience, Inc" (США) відповідно до інструкцій фірми-виробника, на аналізаторі "StatFax 303 Plus".

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 6.0 з використанням параметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами встановлювали за допомогою критерію Манна – Уїтні. Зміни вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Незаперечним є той факт, що імунна система – важливий

регулятор антигенної резистентності в організмі завдяки здатності до зв'язування та нейтралізації чужорідних агентів – антигенів. Це забезпечується через задіяння її як гуморальної, так і клітинної ланок. Головними ефекторами гуморальної ланки імунної системи є імуноглобуліни – специфічні протеїни γ -глобулінової фракції плазми крові, які становлять до 20 % її маси. У плазмі крові наявні 5 класів імуноглобулінів (Ig G, Ig M, Ig A, Ig D, Ig E), що забезпечують реалізацію імунного захисту. Кожен із вказаних класів імуноглобулінів виконує певні специфічні функції. Ми вивчали вплив наночастинок оксиду цинку та гліфосату на вміст у сироватці крові імуноглобулінів класів A, M, G, які забезпечують безпосередню імунну відповідь організму за умов вторгнення антигенів або ж запобігають проникненню їх в організм [11, 12].

Як свідчать результати наших досліджень, гуморальна ланка імунної системи не зазнавала достовірних змін у тварин, яким вводили нано-ZnO. Зокрема, ми бачимо, що показники вмісту Ig A, Ig M та Ig G достовірно не відрізнялися від аналогічних показників інтактних тварин. Зміни з боку вмісту ЦІК були аналогічними.

Як видно з результатів наших досліджень, наведених у таблиці, гуморальна ланка імунної системи достовірних змін зазнавала після введення тваринам гербіциду гліфосату. В цьому випадку збільшувалася концентрація Ig G, даний показник підвищився в 1,7 раза ($p < 0,05$) порівняно з показником щурів контрольної групи. Також було зафіксовано різке зростання (у 2 рази, $p < 0,05$) концентрації ЦІК відносно показника тварин контрольної групи (див. табл.).

Що стосується інших показників (Ig A й Ig M), то вони при введенні щурам гліфосату достовірно не відрізнялися від аналогічних показників тварин контрольної групи.

Збільшення вмісту Ig G при хімічній інтоксикації, ймовірно, є наслідком активації ефекторної ланки імунної системи у відповідь на запальні або деструктивні зміни тканин організму. Відомо, що токсичне ураження гербіцидом гліфосатом спричиняє перекисну деградацію макромолекул

протеїнової природи і підсилює протеолітичні процеси в клітинах. Ці процеси створюють умови для виникнення автоімунних реакцій і появи протиорганних антитіл [13, 14].

Активації автоімунних реакцій сприятимуть і порушення зі сторони функціонального стану мітросомальної монооксигеназної системи, викликані впливом токсиканта на організм. За нормальних умов ця система здатна трансформувати ендогенні продукти з антигенними властивостями. Пригнічення монооксигеназної системи призводить до тривалої персистенції сенсибілізуючих агентів в організмі. Очевидно, саме вищезазвані причини і зумовили зареєстроване достовірне збільшення вмісту імуноглобулінів класу G у сироватці крові тварин, яким вводили гербіцид гліфосат.

На користь цього припущення свідчить і зафіксоване значне підвищення концентрації циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові щурів, уражених гліфосатом.

Як видно з даних, наведених у таблиці, максимальне підвищення концентрації Ig та ЦІК спостерігали у тварин, яким сумісно вводили наночастинок оксиду цинку і гліфосат. Варто зазначити, що у щурів, яких піддавали комбінованій дії наночастинок разом із хімічним токсикантом, також зростала концентрація Ig A (на 39 %, $p < 0,05$), а вміст Ig M та Ig G збільшився, відповідно, на 48 і 28 % ($p < 0,05$) порівняно з групою тварин, яким вводили сам гліфосат. Вміст ЦІК у сироватці крові щурів зазнав достовірного (на 43 %) зростання порівняно з групою тварин, яким вводили тільки хімічний токсикант. Підвищення рівня ЦІК у сироватці крові щурів свідчило про посилення гуморальної імунної відповіді на надходження в організм наночастинок оксиду цинку та гліфосату як чужорідного агента.

Певну роль у підвищенні рівня імуноглобулінів та циркулюючих імунних комплексів при інтоксикації може відігравати також зміна їх катаболізму. Порушення виведення ЦІК з організму сприяє тривалій їх циркуляції у кров'яному руслі, що створює умови для їх шкідливої дії на тканини.

Таблиця – Вплив наночастинок оксиду цинку та гліфосату на показники гуморальної ланки імунної системи щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Показник	Група тварин			
	інтактні	нано-ZnO	гліфосат	нано-ZnO+гліфосат
Ig A, г/л	0,64±0,04	0,62±0,05	0,68±0,04	0,95±0,06*#
Ig M, г/л	0,95±0,08	0,90±0,07	0,98±0,06	1,46±0,09*#
Ig G, г/л	9,52±0,85	11,02±0,91	16,72±1,18*	21,54±1,35*#
ЦІК, ум. од.	45,61±3,45	52,45±3,58*	89,67±4,23*	128,54±5,24*#

Примітки:

1. * – зміни достовірні порівняно з показниками тварин контрольної групи ($p < 0,05$).

2. # – зміни достовірні порівняно з показниками тварин, яким вводили гліфосат ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ. З огляду на такі результати, можна зробити висновок, що наночастинки оксиду цинку, за умов сумісної дії, посилюють здатність токсиканта гліфосату викликати зміни гуморальної ланки імунної системи піддослідних тварин.

Такий синергізм токсичних ефектів досліджуваних чинників, найімовірніше, зумовлений здатністю наночастинок оксиду цинку абсорбувати на своїй поверхні велику кількість токсичних сполук та сприяти їх транспорту в тканини і клітини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Леоненко Н. С. Особливості фізико-хімічних властивостей та токсичної дії наноматеріалів – до проблеми оцінки їхнього небезпечного впливу на живі організми (огляд літератури) / Н. С. Леоненко, О. В. Демецька, О. Б. Леоненко // *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки*. – 2016. – № 1. – С. 64–77.
2. Чекман І. С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування / І. С. Чекман // *Укр. біохім. журн.* – 2009. – **81**, № 1. – С. 122–129.
3. Jiang J. The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. / J. Jiang, J. Cai // *Bioinorganic Chemistry and Applications*. – 2018. Article ID 1062562, 18 pages <https://doi.org/10.1155/2018/1062562>
4. Цинк і наноцинк: властивості, застосування у клінічній практиці / І. С. Чекман, З. Р. Ульберг, А. Д. Руденко [та ін.] // *Укр. мед. часоп.* – 2013. – № 2 (94). – III/IV. – С. 42–47.
5. Микитюк М. В. Наночастинки та перспективи їх застосування в біології і медицині / М. В. Микитюк // *Проблеми екології та медицини*. – 2011. – № 5–6. – С. 41–49.
6. Трахтенберг І. М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості / І. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха // *Укр. журн. з проблем медицини праці*. – 2013. – № 4 (37). – С. 62–74.
7. Heera P. Nanoparticle characterization and application: an overview / P. Heera, S. Shanmugam // *Int. J. Curr. Microbiol. App.* – 2015. – **4** (8). – P. 379–386.
8. Jensen Interaction of biologically relevant proteins with ZnO nanomaterials: A confounding factor for in vitro toxicity endpoints / E. Da. Silva, Y. Kembouchea, U. Tegnera [et al.] // *Toxicology in Vitro*. – 2019. – **56**. – P. 41–51.
9. Чекман І. С. Наногенотоксикологія: вплив наночастинок на клітину / І. С. Чекман, М. О. Говоруха // *Укр. мед. часоп.* – 2011. – № 1 (81). – I–II. – С. 30–35.
10. In vitro effect of the herbicide glyphosate on human blood platelet aggregation and coagulation / T. J. C. Neiva, A. C. R. Moraes, R. Schwyzer [et al.] // *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* – 2010. – **32** (4). – P. 291–294.
11. Гриневич Ю. А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных / Ю. А. Гриневич, А. М. Алферов // *Лаб. дело*. – 1981. – № 8. – С. 493–495.
12. Acute toxicological impact of nano- and sub-microscaled zinc oxide powder on healthy adult mice / B. Wang, W. Feng, M. Wang [et al.] // *Journal of Nanoparticle Research*. – 2008. – **10** (2). – P. 263–276.
13. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология : пособ. для студентов, врачей-интернов, иммунологов, аллергологов, врачей лечебного профиля всех специальностей / Г. Н. Дранник. – 3-е изд., дополн. – К. : Полиграф плюс, 2010. – 552 с.
14. Oral exposure to zinc oxide nanoparticles induced oxidative damage, inflammation and genotoxicity in rat's lung / N. Howaida, H. Atti, M. Shalaby, M. Arafah // *Life Science Journal*. – 2013. – **10** (1). – P. 1969–1979.

REFERENCES

1. Leonenko, N.S., Demetska, O.V., Leonenko, O.B. (2016). Features of physicochemical properties and toxic effects of nanomaterials – to the problem of assessing their dangerous effects on living organisms. *Modern Problems of Toxicology, Food and Chemical Safety*. 1, 64-77 [in Ukrainian].
2. Chekman, I.S. (2009). Nanoparticles: properties and usage perspectives. *Ukrainian Biochemistry Journal*, 1 (81), 122-129.
3. Jiang, J., Cai, J. (2018). The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Article ID 1062562, 18 pages <https://doi.org/10.1155/2018/1062562>.
4. Chekman, I.S., Ulberh, Z.R., Rudenko, A.D., Marushko, Yu.V., Hruzina, T.H., Reznichenko, L.S., Dybkova, S.M., Hrebelnyk A.I. (2013). Zinc and nanozinc: properties, application in clinical practice. *Ukrainian Medical Journal*, 2 (94, III/IV), 42-47 [in Ukrainian].
5. Mykytiuk, M.V. (2011). Nanoparticles and prospects for their application in biology and medicine. *Problems of Ecology and Medicine*, 5-6, 41-49 [in Ukrainian].
6. Trakhtenberh, I.M., Dmytrukha, N.M. (2013). Metal nanoparticles, production methods, areas of application, physicochemical and toxic properties. *Ukrainian Journal on Problems of Occupational Medicine*, 4 (37), 62-74 [in Ukrainian].
7. Heera, P. (2015). Nanoparticle characterization and application: an overview. *Int. J. Curr. Microbiol. App.*, 4 (8), 379-386.
8. Silva, E. Da., Kembouchea, Y., Tegnera, U., Baunb, A., Keld A. (2019). Jensen Interaction of biologically relevant proteins with ZnO nanomaterials: Acon-

founding factor for in vitro toxicity endpoints. *Toxicology in Vitro*, 56, 41-51.

9. Chekman, I.S., Hovorukha, M.O. (2011). Nanogenotoxicology: the influence of nanoparticles on the cell. *Ukrainian Medical Journal*, 1 (81), I/II, 30-35 [in Ukrainian].

10. Neiva, T.J.C., Moraes, A.C.R., Schwyzer, R., Rocha, T.R.F., Fries, D.M., Silva, A.M., Benedetti, A.L. (2010). In vitro effect of the herbicide glyphosate on human blood platelet aggregation and coagulation. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, 32(4), 291-294.

11. Grinevich, Yu.A., Alferov, A.M. (1981). Identification of immune complexes in the blood of cancer patients. *Laboratory Case*, 8, 493-495 [in Russian].

12. Wang B., Feng W., Wang M. (2008). Acute toxicological impact of nano- and submicroscaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *Journal of Nanoparticle Research*, 10 (2), 263-276.

13. Drannik, G.N. (2010). *Clinical immunology and allergology: benefit for students, interns, immunologists, allergists, doctors of medical profile of all specialties*. Kyiv: Polihraf plius [in Russian].

14. Howaida, N., Atti, H., Shalaby, M., & Arafah, M. (2013). Oral exposure to zinc oxide nanoparticles induced oxidative damage, inflammation and genotoxicity in rat's lung. *Life Science Journal*, 10 (1), 1969-1979.

Ya. Yu. Petrenko, M. M. Korda

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF COMBINED ACTION OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES AND HERBICIDE GLYPHOSATE ON THE STATE OF HUMORAL LINK IMMUNE SYSTEM

Summary

Introduction. Nanotechnology today is the most promising direction in the development of world science. Nanomaterials have caused a step forward in many industries and are used in our overall life. Due to their unique properties, nanoparticles are widely used in scientific research, industry and medicine. With everyday increase in the pace of use of nanomaterials, less attention is paid to the possible negative effect of nanoparticles on the health of people and environmental safety as a whole. The capability of nanoparticles to increase the transport of chemicals and drugs into cells and through the body barriers provides the possibility of the potentiating of chemical contaminants toxicity in case of their simultaneous intake into the body.

The aim of the study – to investigate the ability of zinc oxide nanoparticles and chemical toxicant herbicide glyphosate to cause changes in the state of humoral immune system

Research Methods. Suspension of ZnO nanoparticles (0.5 ml) at a dose of 100 mg/kg and glyphosate (in the form of herbicide roundup) at a dose of 250 mg/kg of body weight were administered intragastrically to male rats for 14 days. The toxicants were administered simultaneously and separately. Circulating immune complexes and classes of immunoglobulins A, M, G were measured in rat blood plasma.

Results and Discussion. It was established that under the influence of zinc oxide nanoparticles, the studied indicators did not reliably differ from the control indicators. The administration of glyphosate to rats caused significant changes of indices immunoglobulins G and circulating immune complexes. However, the maximal changes of the parameters were evidenced in the group of animals that were co-administered with zinc oxide nanoparticles and glyphosate. In this case, activities of circulating immune complexes and immunoglobulins blood significantly changed compared to the similar indicators in the group of animals, which were administered with the chemical toxicant only.

Conclusion. Zinc oxide nanoparticles enhance the negative toxic effects of herbicide glyphosate. Carbon nanotubes enhance the negative toxic effects of tetrachloromethane.

KEY WORDS: nano-ZnO; glyphosate; immunoglobulins.

Отримано 25.10.22

Адреса для листування: М. М. Корда, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: korda@tdmu.edu.ua.