

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ФУЛЕРЕНІВ C<sub>60</sub> НА ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ  
ТОЛУОЛУ

Наночастинки є значущими контамінантами навколишнього середовища. В більшості випадків наночастинки впливають на організм не ізольовано, а в поєднанні з іншими речовинами хімічної природи. Метою даної роботи було дослідити синергізм токсичних ефектів фулеренів C<sub>60</sub> і толуолу. Лабораторним щурам інтраперитонеально вводили суспензію фулеренів (60 мг/кг), толуол (0,5 мл/кг) і толуол із розчиненими в ньому фулеренами. В динаміці визначали активність у сироватці аланін- і аспартатаміно-трансфераз (АлАТ і АсАТ), лужної (ЛФ) та кислої (КФ) фосфатаз, вміст білка, сечовини і креатиніну. Під впливом чистих фулеренів досліджувані показники практично не змінювалися. Толуол підвищував активність досліджуваних ферментів у період з 3-ї до 72-ї год після введення і знижував рівень білка в сироватці. Застосування наночастинок разом із хімічним токсикантом посилювало цитолітичний ефект останнього (активність АлАТ, АсАТ і КФ достовірно зростала порівняно з тваринами, яким вводили тільки толуол). Також при поєднаному введенні толуолу з фулеренами більшою мірою, ніж при дії лише толуолу, пригнічувалися процеси синтезу білка і азотовмісних сполук у печінці. Зроблено висновок, що фулерени і толуол взаємодіють синергічно щодо індукції пошкодження печінки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фулерени, толуол, синергізм, гепатотоксичність.

ВСТУП. У зв'язку зі швидким розвитком нанотехнологій, останнім часом штучні наночастинки та наноматеріали можуть бути важливими забруднювачами об'єктів навколишнього середовища (атмосферне повітря, вода, ґрунт і т. д.) та харчових продуктів [1–3]. У більшості випадків за умов масованого антропогенного навантаження на екосистеми наноматеріали впливають на організм людини не ізольовано, а в поєднанні з великим числом різних речовин хімічної та біологічної природи, які мають традиційний ступінь дисперсності [4–6]. Завдання оцінки інтегрального ризику, тобто зумовленого сукупною дією на організм різних за механізмом дії шкідливих чинників, вимагає дослідження механізмів їх можливої взаємодії, що призводить або до посилення токсичного ефекту (синергізм), або, навпаки, до його послаблення (антагонізм).

Метою даної роботи було дослідити можливий синергізм токсичних ефектів карбонових наночастинок C<sub>60</sub> і відомого хімічного токсиканта толуолу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 104 безпородних щурах-самцях масою 150–180 г, яких утримували на стандартній © Л. М. Палиця, М. М. Корда, 2014.

дієти. Всіх тварин поділили на 4 групи: 1-ша – контрольна (інтактні щури), яким інтраперитонеально вводили фізрозчин (0,5 мл/кг); 2-га – щури, яким інтраперитонеально вводили 60 мг/кг суспензії фулерену C<sub>60</sub>; 3-тя – тварини, яким інтраперитонеально вводили толуол у дозі 0,5 мл/кг; 4-та – щури, яким вводили фулерен (60 мг/кг), розведений у толуолі (0,5 мл/кг). Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом через 3, 6, 24 і 72 год. У сироватці крові визначали активність аланін- та аспартатамінотрансфераз (АлАТ і АсАТ), лужної (ЛФ) та кислої (КФ) фосфатаз, концентрацію загального білка, сечовини і креатиніну за загальноприйнятими методами з використанням стандартних наборів реагентів фірми “Human” (Німеччина).

Результати виражали як середне±SEM з 8 експериментів. Зміни p<0,05 розглядали як статистично достовірні. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з даних, наведених у таблиці 1, введення щурам чистої суспензії фулеренів C<sub>60</sub> у дозі 60 мг/кг не викликало достовірних змін ак-

тивності в сироватці крові ферментів маркерів цитолізу (АлАТ і АсАТ), а також активності фосфатаз (ЛФ і КФ). Спостерігали лише деяку тенденцію до підвищення активності даних ферментів у динаміці з максимумом на 24 год після введення наночастинок, проте зміни виявилися недостовірними. Не змінювалася суттєво під впливом фулеренів також здатність гепатоцитів до синтезу білка й азотовмісних продуктів. Зокрема, вміст загального білка, сечовини і креатиніну в сироватці крові тварин, яким вводили С<sub>60</sub>, не відрізнявся від такого у сироватці інтактних щурів у всі терміни дослідження.

На відміну від фулеренів, інтраперитонеальне введення тваринам толуолу в дозі 0,5 мл/кг призводило до вираженого цитолізу гепатоцитів, про що свідчило різке підвищення активності АлАТ і АсАТ (табл. 2). При цьому максимальний цитолітичний ефект спостерігали через 3 год після застосування токсиканта. У цей термін активність АлАТ зростала в 3,0 рази,

а активність АсАТ – у 2,5 рази порівняно з інтактними щурами. Про ураження печінки толуолом також свідчило виражене підвищення активності фосфатаз, яке досягало максимуму на 6 год експерименту. Так, у цей термін експерименту активність ЛФ та КФ була в 1,7 і 2,4 рази більшою, ніж відповідні показники в сироватці контрольних тварин. У пізніші строки дослідження під впливом хімічного токсиканта достовірно пригнічувалася білоксинтезувальна функція печінки (вміст загального білка в сироватці уражених тварин на 24 і 72 год експерименту зменшувався, порівняно з таким у контролі, на 25 і 28 % відповідно). Водночас на рівень сечовини і креатиніну толуол суттєвого ефекту не справив.

Проте найбільш виражено досліджувані показники змінювалися у сироватці крові щурів, яким вводили фулерени, розведені в толуолі (табл. 3). У цьому випадку активність маркерних ферментів цитолізу була достовірно вищою порівняно з групою тварин, яким вводили тільки

Таблиця 1 – Вплив фулеренів С<sub>60</sub> на показники функціонального стану печінки (M±m, n=8)

Показник	Група тварин				
	інтактні	С <sub>60</sub>			
		час після введення, год			
		3	6	24	72
АлАТ, од./л	58,95±5,23	60,48±5,35	65,65±5,90	65,08±5,61	60,03±6,44
АсАТ, од./л	143,41±10,95	148,44±10,22	158,21±10,72	160,42±11,43	142,29±10,64
Лужна фосфатаза, од./л	408,25±30,46	428,67±30,34	430,44±35,43	437,49±29,23	406,78±35,60
Кисла фосфатаза, од./л	42,22±3,52	44,25±3,76	48,12±3,37	48,49±3,97	43,88±2,81
Загальний білок, г/л	74,69±6,98	72,44±5,99	70,97±7,04	72,98±6,40	74,42±4,48
Креатинін, мкмоль/л	70,50±5,54	71,80±5,74	73,47±4,22	72,85±4,72	70,64±6,36
Сечовина, ммоль/л	9,97±1,20	10,65±1,27	8,49±1,20	8,59±1,18	10,96±1,32

Таблиця 2 – Вплив толуолу на показники функціонального стану печінки (M±m, n=8)

Показник	Група тварин				
	інтактні	толуол			
		час після введення, год			
		3	6	24	72
АлАТ, од./л	58,95±5,23	176,03±15,22*	153,50±13,47*	135,26±11,93*	118,16±10,75*
АсАТ, од./л	143,41±10,95	358,43±24,80*	329,42±22,67*	299,51±21,34*	264,71±19,59*
Лужна фосфатаза, од./л	408,25±30,46	638,85±47,57*	698,87±44,00*	657,01±42,47*	579,73±38,79*
Кисла фосфатаза, од./л	42,22±3,52	101,67±9,57*	103,04±9,93*	98,58±8,56*	85,41±6,69*
Загальний білок, г/л	74,69±6,98	69,58±5,28	67,08±4,25	55,15±3,28*	53,46±3,16*
Креатинін, мкмоль/л	70,50±5,54	68,60±6,24	67,10±7,21	73,07±8,26	68,25±7,26
Сечовина, ммоль/л	9,97±1,20	10,91±1,17	8,91±0,76	8,66±0,60	7,67±0,70

Примітка. \* – зміни достовірні порівняно з контролем (p<0,05).

Таблиця 3 – Вплив поєднаного застосування C<sub>60</sub> і толуолу на показники функціонального стану печінки (M±m, n=8)

Показник	Група тварин				
	інтактні	толуол+C <sub>60</sub>			
		час після введення, год			
		3	6	24	72
АлАТ, од./л	58,95±5,23	240,24±22,70*#	235,57±17,82*#	226,92±16,92*#	189,54±13,66*#
АсАТ, од./л	143,41±10,95	578,50±48,46*#	553,98±44,87*#	542,60±42,98*#	488,96±30,31*#
Лужна фосфатаза, од./л	408,25±30,46	660,07±62,77*	786,50±73,56*	737,73±41,71*	629,69±41,00*
Кисла фосфатаза, од./л	42,22±3,52	128,04±10,59*	165,43±9,61*#	160,21±10,96*#	145,19±9,20*#
Загальний білок, г/л	74,69±6,98	68,71±5,18	55,26±2,75*	52,35±3,35*	52,02±4,86*
Креатинін, мкмоль/л	70,50±5,54	64,27±5,83	60,45±4,54	60,39±3,25	61,62±4,28
Сечовина, ммоль/л	9,97±1,20	7,78±0,66	6,47±0,59*	6,41±0,51*	6,16±0,43*

Примітки:

1. \* – зміни достовірні порівняно з контролем (p<0,05).

2. # – зміни достовірні порівняно з групою тварин, яким вводили толуол (p<0,05).

хімічний токсикант, у всі терміни дослідження. Мала виражену тенденцію до підвищення, порівняно з 3-ю групою щурів, також активність ЛФ, а активність КФ зростала достовірно у всі терміни спостереження, крім 3 год. На відміну від інтоксикації чистим фулереном, вміст загального білка в сироватці щурів 4-ї групи достовірно пригнічувався вже на 6 год експерименту. Також при поєднаному введенні толуолу з фулеренами достовірно, порівняно з інтактними тваринами, знижувався вміст в сироватці сечовини, чого не спостерігали при застосуванні чистого толуолу.

Отже, в роботі продемонстровано, що гепатотоксичність хімічного токсиканта толуолу суттєво підвищується при його потрапленні в організм разом із карбоновими наночастинками фулеренами C<sub>60</sub>. Принципова можливість посилення токсичної дії толуолу під дією наночастинок може бути пов'язана з двома основними групами факторів. По-перше, згідно з наявними на даний час даними, наночастинки через свої малі розміри здатні відносно безперешкодно проникати через фізіологічні бар'єри організму і далі через біологічні мембрани в клітини. При цьому наночастинки, внаслідок своєї високої питомої площі поверхні й наяв-

ності некомпенсованих валентних зв'язків на міжфазних межах високої кривизни, мають здатність до адсорбції великої кількості хімічних токсикантів. Результатом такої суперпозиції властивостей може бути транспорт додаткової кількості токсикантів, пов'язаних на наночастинках, у клітини організму (т.зв. ефект “троянського коня”). По-друге, здатність наночастинок різних видів проникати в клітини і взаємодіяти з ДНК, РНК та іншими біополімерами може призводити до змін експресії генів, транскрипції і трансляції білка. У результаті можливі зміни активності ряду ферментних систем, у тому числі ферментів системи I і II фаз детоксикації ксенобіотиків та антиоксидантного захисту, що, у свою чергу, може призводити до акумуляції додаткової кількості хімічних токсикантів і не менш токсичних продуктів їх неповного метаболізму в організмі.

**ВИСНОВОК.** Карбонові наночастинки фулери і толуол взаємодіють синергічно щодо індукції пошкодження печінки. Для безпечного застосування нанотехнологій необхідні подальші біохімічні та інші дослідження для вивчення механізмів такого синергічного ефекту.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балабанов В. И. Нанотехнологии. Наука будущего / В. И. Балабанов. – М. : Эксмо, 2009. – 220 с.  
2. Глушкова А. В. Нанотехнологии и нанотоксикология – взгляд на проблему / А. В. Глушкова,

А. С. Радиллов, В. Р. Рембовский // Токсикол. вестник. – 2007. – № 6. – С. 4–9.

3. Михайленко В. М. Нанотехнології – перспективи застосування та ризики для здоров'я людини /

В. М. Михайленко, П. М. Михайленко, Л. О. Єлейко // Онкологія. – 2008. – 10, № 4. – С. 420–426.

4. Acute toxicity study of the interaction between titanium dioxide nanoparticles and lead acetate in mice / Zhang R., Niu Y., Li Y. [et al.] // Environ. Toxicol. Pharmacol. – 2010. – 30, N 1. – P. 52–60.

5. Influence of 50-nm polystyrene particles in inducing cytotoxicity in mice co-injected with carbon

tetrachloride, cisplatin, or paraquat / Shimizu Y., Isoda K., Tezuka E. [et al.] // Pharmazie. – 2012. – 67, № 8. – P. 712–714.

6. Liver injury induced by thirty- and fifty-nanometer-diameter silica nanoparticles / Isoda K., Tetsuka E., Shimizu Y. [et al.] // Biol. Pharm. Bull. – 2013. – 36, № 3. – P. 370–375.

**Л. М. Палица, С. А. Ястремская, М. М. Корда**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ Фуллеренов C<sub>60</sub> НА ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ ТОЛУОЛА

### Резюме

Наночастицы являются значимыми контаминантами окружающей среды. В большинстве случаев наночастицы влияют на организм не изолированно, а в сочетании с другими веществами химической природы. Целью данной работы было исследовать синергизм токсических эффектов фуллеренов C<sub>60</sub> и толуола. Лабораторным крысам интраперитонеально вводили суспензию фуллеренов (60 мг/кг), толуол (0,5 мл/кг) и толуол с растворенными в нем фуллеренами. В динамике определяли активность в сыворотке аланин- и аспаратаминотрансфераз (АлАТ и АсАТ), щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатаз, содержание белка, мочевины и креатинина. Под влиянием чистых фуллеренов исследуемые показатели практически не изменялись. Тoluол повышал активность исследуемых ферментов в период от 3 до 72 часов после введения и снижал уровень белка в сыворотке. Применение наночастиц вместе с химическим токсикантом усиливало цитолитический эффект последнего (активность АлАТ, АсАТ и КФ достоверно возрастала по сравнению с животными, которым вводили только толуол). Также при совместном введении толуола с фуллеренами в большей степени, чем при действии только толуола, подавлялись процессы синтеза белка и азотсодержащих соединений в печени. Сделан вывод, что фуллерены и толуол взаимодействуют синергически в плане индукции повреждения печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фуллерены, толуол, синергизм, гепатотоксичность.

**L. M. Palytsia, S. O. Yastremska, M. M. Korda**

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## STUDY OF FULLERENES C<sub>60</sub> EFFECT ON TOLUENE HEPATOTOXICITY

### Summary

Nanoparticles are important environmental contaminants. In most cases, the nanoparticles affect the body not in isolation but in combination with other substances of chemical nature. The aim of this study was to investigate the synergy toxicity of fullerenes C<sub>60</sub> and toluene. Laboratory rats were injected intraperitoneally with fullerene suspension (60 mg/kg), toluene (0.5 ml/kg) and fullerenes dissolved in toluene. The activity of serum alanine and aspartate aminotransferases (ALT and AST), alkaline (ALP) and acidic (AP) phosphatases, levels of protein, urea and creatinine were measured in dynamics. Under the influence of pure fullerenes the studied parameters did not change. Toluene increased activity of the studied enzymes in the period from 3rd to 72nd hour after administration and reduced the level of protein in the serum. The use of nanoparticles with chemical toxicant increased the cytolytic effect of the latter (activity of ALT, AST and AP significantly increased compared with animals injected only with toluene). Also in combined administration of toluene with fullerenes the processes of protein and nitrogen-containing compounds synthesis in the liver were suppressed more markedly than in rats exposed only to toluene. It has been concluded that fullerenes and toluene interact synergistically in terms of liver damage induction.

KEY WORDS: fullerenes, toluene, synergism, hepatotoxicity.

Отримано 03.07.14

Адреса для листування: М. М. Корда, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.