

НАНОЧАСТИНКИ ОКСИДУ ЦИНКУ ПОСИЛЮЮТЬ ВИКЛИКАНИЙ ГЕРБІЦИДОМ ГЛІФОСАТОМ ОКСИДАТИВНИЙ ТА НІТРООКСИДАТИВНИЙ СТРЕС

©Я. Ю. Гапоненко, Н. Я. Летняк, М. М. Корда

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

РЕЗЮМЕ. Розвиток нанотехнологій сприяє появі нових ультрависокодисперсних форм речовин – наноматеріалів, які широко використовують у наукових дослідженнях, промисловості та медицині. Характерна для наночастинок здатність посилювати транспорт хімічних речовин і лікарських засобів у клітини і через бар'єри організму робить актуальним питання про можливість потенціювання токсичної дії хімічних контамінантів при їх сумісному надходженні в організм.

Мета – вивчити вплив наночастинок оксиду цинку на здатність гербіциду гліфосату викликати оксидативний та нітрооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів.

Матеріал і методи. Досліди виконані на щурах-самцях, яким внутрішньошлунково протягом 14 днів вводили у вигляді суспензії 0,5 мл наночастинок ZnO у дозі 100 мг/кг та гліфосат (у формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла. Токсиканти вводили сумісно та окремо. У сироватці й печінці визначали сумарну активність NO-синтази, каталази, супероксиддисмутази, вміст NOx, ТБК-активних продуктів, окисномодифікованих білків, відновленого глутатіону, церулоплазмину і загальну антиоксидну активність сироватки.

Результати. Встановлено, що під впливом наночастинок оксиду цинку більшість показників зазнавали негативних змін. Введення щурам гербіциду гліфосату призводило до більш вираженого зсуву всіх досліджуваних показників. Проте максимальні зміни показників зареєстровано у групі тварин, яким сумісно вводили наночастинок оксиду цинку та гліфосат. У цьому випадку показники вмісту ТБК-активних продуктів, NOx, окисно-модифікованих білків й активності NO-синтази і супероксиддисмутази в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів достовірно погіршувалися, порівняно з аналогічними показниками у групі тварин, яким вводили тільки гербіцид.

Висновок. Наночастинок оксиду цинку посилюють здатність гербіциду гліфосату викликати оксидативний і нітрооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: наночастинок оксиду цинку; гліфосат; оксидативний та нітрооксидативний стрес.

Вступ. Зважаючи на широке використання багатьма країнами світу у різних сферах виробництва, побуті й медицині, наноматеріали набувають характеру нового глобального антропогенного чинника, який може характеризуватись потенційною небезпекою як для здоров'я людини, так і для стану екологічних систем [10]. Характерні для наночастинок малі розміри та велика сумарна площа поверхні, в поєднанні з іншими фізико-хімічними властивостями, можуть зумовлювати досить непрогнозовані токсикологічні властивості. Токсичні ефекти наноматеріалів залежать від багатьох вихідних станів наночастинок та можуть реалізуватися як на тканинному рівні, після проникнення наночастинок у внутрішнє середовище організму та захоплення клітинами, так і опосередковано, за рахунок їх впливу на видовий склад, чисельність і активність компонентів кишкового мікробіоценозу [4, 5, 7].

Одним із пріоритетних видів наноматеріалів є нанопорошок оксиду цинку (нано-ZnO), який широко використовують у всезростаючих масштабах, зокрема у медицині та фармакології, харчовій промисловості та сільському господарстві, виробництві комерційних продуктів та косметології [14, 17]. Необхідно зазначити, що дані щодо токсичності нано-ZnO є вельми суперечливими. Дея-

кі дослідження свідчать про мінімальну токсичність наночастинок оксиду цинку або про повну її відсутність [11, 20]. Токсикологічні дослідження інтратрахеального введення наночастинок оксиду цинку, проведені на мишах В. Wang, дали неоднозначні результати: від відсутності токсичності до запалення з формуванням гранульом у легенях і смерті експериментальних тварин. На сьогодні питання про механізми токсичності наночастинок оксиду цинку залишається відкритим [20].

Наночастинок характеризуються тим, що мають властивість проходити крізь біологічні бар'єри в межах організму, які не проникні для більших частинок. При цьому адсорбовані на їх поверхні токсини можуть проникати у внутрішнє середовище клітини або впливати на мембранні циторецептори, ініціюючи імунну реакцію, що зумовлює актуальність вивчення токсикологічних властивостей наночастинок при їх надходженні в організм разом із традиційними контамінантами довкілля [7, 8].

До небезпечних речовин антропогенного походження, що надходять у навколишнє середовище, належать хімічні засоби боротьби з небажаною рослинністю – гербіциди. Обсяг цих біологічно активних і часто високотоксичних для людини і тварин речовин, що використовуються щорічно

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення в світовій практиці, нині досягає понад 2 млн т. Один з найпоширеніших у світі гербіцидів – гліфосат. Препарати на його основі застосовують у більш як 130 країнах [15]. Проте, попри надзвичайно широке застосування, щодо безпечності гліфосату для здоров'я людини залишається ряд питань.

Тому, враховуючи інтенсивний розвиток нанотехнологій і, зокрема, широке використання наночастинок ZnO у 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 – вивчити вплив наночастинок оксиду цинку на здатність хімічного токсиканта гліфосату викликати оксидативний та нітрооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів.

Матеріал і методи дослідження. В експериментах використовували безпородних щурів-самців масою 160 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Інтотоксикацію в щурів моделювали шляхом щоденного внутрішньошлункового введення впродовж 14-ти діб 0,5 мл наночастинок оксиду цинку у вигляді суспензії в дозі 100 мг/кг маси тіла [13] і гліфосату (у формі гербіциду раундапу) в дозі 250 мг/кг маси тіла. Токсиканти вводили сумісно та окремо. Як контроль використовували інтактних тварин.

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) тварини; 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 тварини). Дослідженню підлягали сироватка крові й гомогенат печінки. У сироватці крові визначали загальний вміст нітратів і нітритів (NOx) [16], рівень ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [1], окисномодифікованих білків (ОМБ) [6], активність каталази (КТ) [3], вміст відновленого глутатіону (Г-SH) [12], церулоплазміну (ЦП) [2] і загальну антиоксидну активність (ЗАА) [18]. У печінці визначали сумарну активність NO-синтази [19], активність супероксиддисмутази (СОД) [9] і рівень ТБК-АП [1].

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 Стюдента. Зміни вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

Результати й обговорення. Показники інтенсивності оксидативного і нітрооксидативного стресу в сироватці крові й печінці щурів за умов впливу наночастинок оксиду цинку і гліфосату наведено в таблиці 1. Як можна побачити з цих даних, двотижневне введення щурам розчину наночастинок оксиду цинку викликало достовірні зміни показників інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення, функціонального стану системи синтезу оксиду азоту і системи антиоксидного захисту, порівняно з аналогічними показниками у групі інтактних тварин. Зокрема, вміст ТБК-АП у сироватці крові збільшився у 1,2 раза, а у печінці – у 1,5 раза ($p < 0,05$). Введення тваринам нано-ZnO призвело до достовірного збільшення рівня альдегідо- і кетоніохідних як нейтрального так і основного характеру відповідно у 1,4 та 1,7 раза ($p < 0,05$), порівняно з показниками контрольної групи тварин. Внутрішньошлункове введення гліфосату призвело до ще вираженіших змін інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення і системи антиоксидного захисту. Так, вміст ТБК-АП перевищував показник контролю на 48 % у сироватці крові і на 90 % у печінці дослідних тварин ($p < 0,05$). Введення гліфосату також викликало окисну модифікацію як нейтральних, так і лужних амінокислот сироватки крові. На 14-ту добу експерименту вміст 2,4-динітрофенілгідразонів, що визначалися при 370 нм (відображає концентрацію альдегідо- і кетоніохідних нейтрального характеру), збільшився у 1,7 раза ($p < 0,05$), порівняно з інтактними щурами, а тих, що визначалися при 430 нм (альдегідо- та кетоніохідні основного характеру), – у 2,0 рази ($p < 0,05$).

Як відомо, активність процесів ліпопероксидації та окисної модифікації білків залежить не тільки від інтенсивності утворення вільних радикалів у тканинах, а й від функціонального стану системи антиоксидного захисту. З метою дослідження впливу наночастинок оксиду цинку і гліфосату на стан антиоксидної системи ми визначали активність каталази і супероксиддисмутази, вміст церулоплазміну та відновленого глутатіону й загальну антиоксидну активність сироватки крові. Встановлено достовірне зменшення вмісту ЦП в сироватці (в 1,2 раза, $p < 0,05$), активності КТ у сироватці (в 1,2 раза, $p < 0,05$) і гомогенаті печінки (в 1,5 раза, $p < 0,05$), а також СОД у печінці (в 1,3 раза, $p < 0,05$) щурів, яким вводили наночастинок, порівняно з контролем. Введення тваринам гліфосату

Таблиця 1. Вплив наночастинок оксиду цинку та гліфосату на показники інтенсивності оксидативного і нитрооксидативного стресу в сироватці крові й печінці щурів (M±m, n=8)

Показник	Групи тварин			
	інтактні	нано-ZnO	гліфосат	нано-ZnO+гліфосат
Сироватка крові				
ТБК-АП, мкмоль/л	7,53±0,45	9,26*±0,53	10,69*±0,65	16,56*#±0,80
ОМБ ₃₇₀ , мкмоль/мг білка	0,8±0,03	1,16*±0,05	1,36*±0,07	1,52*±0,08
ОМБ ₄₃₀ , мкмоль/мг білка	0,53±0,02	0,88*±0,04	1,06*±0,05	1,24*#±0,05
ЦП, мг/л	227,3±7,12	197,16*±6,80	170,67*±6,23	141,87*#±6,05
КТ, мкат/л	0,61±0,03	0,48*±0,04	0,40*±0,05	0,34*±0,04
GSH, ммоль/л	2,84±0,19	2,40±0,17	2,02*±0,18	1,57*±0,15
ЗАА, %	59,68±3,15	51,89±2,75	44,20*±2,60	33,15*#±2,65
NO _x , ммоль/л	3,24±0,21	4,53*±0,35	5,83*±0,38	7,12*#±0,35
Гомогенат печінки				
ТБК-АП, мкмоль/кг	28,36±2,04	42,54*±2,85	53,88*±3,02	59,55*±2,92
СОД, ум. од/г	32,05±1,72	24,6*±1,58	20,03*±1,28	15,26*#±1,12
КТ, мкат/мг	35,15±2,01	25,10*±1,86	20,67*±1,72	18,02*±1,61
NO синтаза, нмоль/мг білка	2,53±0,21	3,28*±0,23	4,30*±0,38	5,81*#±0,40

Примітка. * – зміни достовірні порівняно з контролем (p<0,05); # – зміни достовірні порівняно з групою тварин, яким вводили гліфосат (p<0,05).

супроводжувалося глибокими порушеннями функціонування антиоксидної системи. Відомо, що з комплексу ферментів системи антиоксидного захисту СОД першою вступає в процес знешкодження супероксидного аніон-радикала, який утворюється в результаті надходження до організму токсичних чинників. На 14-ту добу експерименту після введення гліфосату активність СОД у печінці знизилась в 1,6 раза (p<0,05). Збільшення в клітині концентрації вільних радикалів зумовлює зменшення активності СОД, можливо, внаслідок необоротного відновлення міді в активному центрі або в результаті окиснення в ньому функціональних груп, зокрема тіолових. Також, цілком імовірно, токсиканти викликають конформаційні зміни молекули ферменту, що призводить до втрати ним своїх функціональних властивостей. Одним із основних антиоксидантів плазми крові є церулоплазмін. Особливістю цього білка є висока стабільність до токсичної дії активних форм кисню, що дозволяє йому зберігати біологічну активність за умов їх інтенсивної генерації. Ми встановили достовірне (в 1,4 раза, p<0,05) зменшення ЦП через 14 діб після введення гліфосату. Під впливом гербіциду спостерігали достовірне зниження активності КТ у сироватці крові (в 1,5 раза) і гомогенаті печінки (у 1,7 раза) та вмісту в сироватці ще одного важливого антиоксиданта – G-SH (у 1,4 раза, p<0,05) порівняно з аналогічними показниками у групі контролю. ЗАА сироватки крові в щурів, яким вводили гліфосат, достовірно (на 35,2 %, p<0,05) зменшувалася порівняно з контролем.

До максимально виражених змін досліджуваних показників призвело введення наночастинок оксиду цинку сумісно з гліфосатом. У цьому випадку вміст ТБК-АП збільшувався у сироватці крові у 2,2 раза і у печінці у 2,1 раза, порівняно з контрольною групою тварин, і достовірно перевищував показники щурів, яким вводили тільки гліфосат. У сироватці крові щурів, яким вводили наночастинок оксиду цинку разом з гліфосатом, вміст ОМБ₃₇₀ та ОМБ₄₃₀ був достовірно вищим (у 1,9 раза і 2,4 раза відповідно, p<0,05), порівняно з інтактною групою тварин. При цьому вміст ОМБ₄₃₀ достовірно перевищував аналогічний показник у тварин, яким вводили тільки гербіцид.

Введення наночастинок оксиду цинку сумісно з гліфосатом призводило до достовірного зниження активності СОД у печінці (у 2,1 раза), КТ у сироватці крові (у 1,7 раза) і гомогенаті печінки (у 1,9 раза), вмісту ЦП (у 1,6 раза) і G-SH (у 1,8 раза) у сироватці крові та ЗАА сироватки (у 1,8 раза), порівняно з аналогічними показниками у контрольній групі тварин.

Токсичне ураження печінки призводить до формування медіаторів запалення, основними з яких є прозапальні цитокіни, що можуть моделювати систему синтезу оксиду азоту в тканинах, зокрема спричиняти гіперактивацію індуцибельної форми синтази оксиду азоту. Тому цікаво було дослідити вплив комбінованого застосування наночастинок оксиду цинку й гліфосату на загальну активність NO-синтази у печінці та вміст метаболітів оксиду азоту в крові. Як свідчать отримані результати, при введенні наночастинок загальна

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

активність NO-синтази в печінці достовірно (у 1,3 раза) підвищувалася, порівняно з групою інтактних тварин. Ще більшою мірою активність ферменту зростала в щурів, яким вводили гліфосат – у 1,7 раза ($p < 0,05$) порівняно з контролем. У тварин, яким вводили сумісно наночастинки та гліфосат, цей показник був максимальним і у 2,3 раза ($p < 0,05$) перевищував показник контролю. Очевидно, активацією NO-синтази можна пояснити отримані нами результати, що свідчать про достовірне збільшення рівня метаболітів оксиду азоту – нітратів і нітритів – у сироватці крові щурів, яким вводили наночастинки чи гліфосат окремо та сумісно. Слід також зазначити, що у тварин, яким вводили наночастинки оксиду цинку разом з гліфосатом, показники вмісту як NOx, так і активності NO-синтази, були достовірно вищими, ніж у щурів, які отримували тільки гербіцид гліфосат. Ці дані вказують на те, що при дії гліфосату сумісно з наночастинками індуцибельна форма синтази оксиду азоту індукується більшою мірою, ніж при його дії без наночастинок. Можна припустити, що порушення обміну NO, поряд з оксидативним стресом, є однією з ключових ланок у патогенезі ураження печінки при дії наночастинок оксиду цинку сумісно з гліфосатом.

Висновки. Отримані дані свідчать про те, що наночастинки оксиду цинку посилюють здатність гербіциду гліфосату викликати оксидативний та нітрооксидативний стрес у сироватці крові й печінці експериментальних щурів. Такий синергізм токсичних ефектів досліджуваних чинників, найімовірніше, зумовлений здатністю наночастинок оксиду цинку абсорбувати на своїй поверхні токсичні сполуки та сприяти їх транспорту до тканин і клітин, зокрема в гепатоцити. Також, оскільки наночастинки оксиду цинку безпосередньо стимулюють окислювальні процеси в клітинах, то можлива сумація прооксидних ефектів досліджуваних чинників. Крім того, можливо, що наночастинки змінюють метаболічні шляхи в клітинах, призводячи до токсифікації ксенобіотиків хімічної природи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
3. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
4. Лахтин В. М. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, М. В. Лахтин // Вестн. РАМН. – 2008. – № 4 – С. 50–55.
5. 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.
6. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковин. мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – С. 156–158.
7. 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.
8. Трахтенберг І. М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості / І. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха // Український журнал з проблем медицини праці. – 2013. – № 4 (37). – С. 62–74.
9. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
10. Чекман І. С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування / І. С. Чекман // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 1. – С. 122–129.
11. Цинк і наночинк: властивості, застосування у клінічній практиці / І. С. Чекман, З. Р. Ульберг, А. Д. Руденко [та ін.] // Укр. мед. часопис. – 2013. – № 2 (94), Т. III/IV. – С. 42–47.
12. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl group / G. L. Ellman // Arch of Bioch. and Biophys. – 1959. – No. 82. – P. 70–77.
13. 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. – No. 10 (1). – P. 1969–1979.
14. Jiang J. The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. / J. Jiang, J. Cai // Bioinorganic Chemistry and Applications. – 2018. Article ID 1062562, 18 p. DOI: 10.1155/2018/1062562
15. Neiva T. J. C. 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. – No. 32 (4). – P. 291–294.
16. Ridnour L. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media / L. Ridnour, J. E. Sim, M. Hayward [et al.] // Anal. Biochem. – 2000. – No. 281. – P. 223–229.
17. 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. – No. 56. – P. 41–51.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

18. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp [et al.] // *Clin. Sci. and Mol. Med.* – 1974. – No. 47. – P. 215–222.

19. N-Hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine / D. Stuehr,

N. S. Kwon, C. Nathan [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1991. – No. 266. – P. 6259–6263.

20. Wang B. Acute toxicological impact of nano- and submicroscaled zinc oxide powder on healthy adult mice / B. Wang, W. Feng, M. Wang [et al.] // *Journal of Nanoparticle Research.* – 2008. – No. 10 (2). – P. 263–276.

REFERENCES

1. Andreyeva, L.I., Kozhemyakin, L.A., & Kishkun A.A. (1988). Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy [Modification of the method of lipid peroxides determination by the test with thiobarbituric acid]. *Laboratornoye delo – Laboratory Work*, 11, 41-43 [in Russian].

2. Kolb, V.G., & Kamyshnikov, V.S. (1982). *Spravochnik po klinicheskoy khimii [Manual om Clinical Chemistry]*. Minsk: Belarus[in Russian].

3. Koroliuk, M.A., Ivanova, L.I., & Mayorova, I.G. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method of catalase activity determination]. *Laboratornoye delo – Laboratory Work*, 1, 16-19 [in Russian].

4. Lakhtin, V.M., Afanasev, S.S., Lakhtin, M.V. (2008). Nanotekhnologii i perspektivy ikh ispolzovaniya v meditsine i biotekhnologii [Nanotechnology and the prospects for their use in medicine and biotechnology]. *Vestn. RAMN – Bulletin of RAMN*, 4, 50-55 [in Russian].

5. Leonenko, N.S., Demetska, O.V., & Leonenko, O.B. (2016). Osoblyvosti fizyko-khimichnykh vlastyvoitei ta toksychnoi dii nanomaterialiv – do problemy otsinky yiknoho nebezpechnoho vplyvu na zhyvi orhanizmy (ohliad literatury) [Features of physicochemical properties and toxic effects of nanomaterials – to the problem of assessing their dangerous effects on living organisms]. *Suchasni problemy toksykologii, kharchovoi ta khimichnoi bezpeky – Modern Problems of Toxicology, Food and Chemical Safety*, 1, 64–77 [in Ukrainian].

6. Meshchyshen, I.F. (1998). Metod vyznachennia oksylivualnoi modyfikatsii bilkiv plazmy (syrovatky) krovi [Method of determination of oxidative modification of plasma (blood serum) proteins]. *Bukovynskiy medychniy visnyk – Bukovynian Medical Journal*, 1 (2), 156-158 [in Ukrainian].

7. Mykytiuk, M. V. (2011). Nanochastyunky ta perspektyvy yikh zastosuvannya v biolohii i medytsyni [Nanoparticles and prospects for their application in biology and medicine]. *Problemy ekolohii ta medytsyny – Problems of Ecology and Medicine*, 5-6, 41-49 [in Ukrainian].

8. Trakhtenberh, I.M., & Dmytrukha, N.M. (2013). Nanochastyunky metaliv, metody otrymannya, sfery zastosuvannya, fizyko-khimichni ta toksychni vlastyvoitei [Metal nanoparticles, production methods, areas of application, physicochemical and toxic properties]. *Ukrainskyi zhurnal z problem medytsyny pratsi – Ukrainian Journal on Problems of Work Medicine*, 4 (37), 62-74[in Ukrainian].

9. Chevri, S., Chaba, I., & Sekei, Y. (1985). Rol superoksidismutazy v oksylitelnykh protsessakh kletki i metod opredeleniya yeye v biologicheskome materiale [Importance of superoxide dismutase in oxidative processes of

a cell and method of its determination in biological material]. *Laboratornoye delo – Laboratory Work*, 11, 678-681 [in Russian].

10. Chekman, I.S. (2009). Nanochastyunky: vlastyvoitei ta perspektyvy zastosuvannya [Nanoparticles: properties and usage perspectives]. *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal – Ukrainian Biochemistry Journal*, 1 (81), 122-129 [in Ukrainian].

11. Chekman, I.S., Ulberh, Z.R., Rudenko, A.D., Marushko, Yu.V., Hruzina, T.H., Reznichenko, L.S., Dybkova, S.M., Hrebelyk A.I. (2013). Tsynk i nanotynk: vlastyvoitei, zastosuvannya u klinichnii praktytsi [Zinc and nanozinc: dominance, stagnation in clinical practice]. *Ukr. med. Chasopys – Ukrainian Medical Review*, 2 (94, III/IV, 42-47 [in Ukrainian].

12. Ellman, G.L. (1959). Tisne sulfhydryl group. *Arch. of Bioch. and Biophys.* (82), 70-77.

13. 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.

14. Jiang, J., & Cai, J. (2018). The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. Article ID 1062562, 18. Retrieved from: <https://doi.org/10.1155/2018/1062562>.

15. 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.

16. Ridnour, L., Sim, J.E. & Hayward, M. (2000). A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media. *Anal. Biochem.*, 281, 223-229.

17. Silva, E. Da., Kembouchea, Y., Tegnera, U., Baunb, A., & Keld A. (2019). Jensen Interaction of biologically relevant proteins with ZnO nanomaterials: Aconfounder factor for in vitro toxicity endpoints. *Toxicology in Vitro*, 56, 41-51.

18. Stock, J., Gutteridge, J.M. & Sharp, R.J. (1974). Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids. *Clin. Sci. and Mol. Med.*, 47, 215-222.

19. Stuehr, D.N., Kwon, N.S. & Nathan, C. (1991). Hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *J. Biol. Chem.*, 266, 6259-6263.

20. 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.

НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЦИНКА УСИЛИВАЮТ ВЫЗВАННЫЙ ГЕРБИЦИДОМ ГЛИФОСАТОМ ОКСИДАТИВНЫЙ И НИТРООКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС

©Я. Ю. Гапоненко, Н. Я. Летняк, М. М. Корда

Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины

РЕЗЮМЕ. Развитие нанотехнологий способствует появлению новых ультравысокодисперсных форм веществ – наноматериалов, которые широко используют в научных исследованиях, промышленности и медицине. Характерная для наночастиц способность усиливать транспорт химических веществ и лекарственных средств в клетки и через барьеры организма делает актуальным вопрос о возможности потенцирования токсического действия химических контаминантов при их совместном поступлении в организм.

Цель – изучить влияние наночастиц оксида цинка на способность гербицида глифосата вызывать оксидативный и нитрооксидативный стресс в сыворотке крови и печени экспериментальных крыс.

Материал и методы. Опыты выполнены на беспородных крысах-самцах, которым внутривентрикулярно в течение 14 дней вводили в виде суспензии 0,5 мл наночастиц ZnO в дозе 100 мг/кг и глифосат (в форме гербицида раундапа) в дозе 250 мг/кг массы тела. Токсиканты вводили совместно и по отдельности. В сыворотке и печени определяли суммарную активность NO-синтазы, каталазы, супероксиддисмутазы, содержание NOx, ТБК-активных продуктов, окислительно-модифицированных белков, восстановленного глутатиона, церулоплазмينا и общую антиоксидантную активность сыворотки.

Результаты. Установлено, что под влиянием наночастиц оксида цинка большинство исследуемых показателей испытывали достоверные изменения. Введение крысам гербицида глифосата приводило к выраженным изменениям всех показателей. Однако максимальные изменения показателей зарегистрированы в группе животных, которым совместно вводили наночастицы оксида цинка и глифосат. В этом случае показатели содержания ТБК-активных продуктов, NOx, окислительно-модифицированных белков и активности супероксиддисмутазы в сыворотке крови и гомогенате печени крыс достоверно изменялись, по сравнению с аналогичными показателями в группе животных, которым вводили только гербицид.

Выводы. Наночастицы оксида цинка усиливают способность глифосата вызывать оксидативный и нитрооксидативный стресс в сыворотке крови и печени экспериментальных крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: наночастицы оксида цинка; глифосат; оксидативный и нитрооксидативный стресс.

ZINC OXIDE NANOPARTICLES ENHANCE OXIDATIVE AND NITRO-OXIDATIVE STRESS CAUSED BY HERBICIDE GLYPHOSATE

©Ya. Yu. Haponenko, N. Ya. Letniak, M. M. Korda

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

SUMMARY. The development of nanotechnologies contributes to the emergence new ultra high dispersed substance forms called nanomaterials which are widely used in scientific research, industry and medicine. 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 organism.

The aim – to explore the effect of zinc oxide nanoparticles on the ability of herbicide glyphosate to cause oxidative and nitro-oxidative stress in blood serum and liver of experimental rats.

Material and 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. The total activity of NO-synthase, catalase, superoxide dismutase, content of NOx, thiobarbituric acid reactive substances, oxidative modified proteins, reduced glutathione, ceruloplasmin and total serum antioxidant activity were measured in serum and liver.

Results and Discussion. It was shown that zinc oxide nanoparticles affect negatively on the majority of studied parameters. The administration of glyphosate resulted in more profound changes of all indices. 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 that case, the content of thiobarbituric acid reactive substances, oxidative modified proteins, NOx and activity of NO-synthase and superoxide dismutase in rats were significantly worse compared with the similar indices in animals that were administered with the chemical toxicant only.

Conclusions. Zinc oxide nanoparticles enhance the capability of the herbicide glyphosate to cause oxidative and nitro-oxidative stress in blood serum and liver of the experimental rats.

KEY WORDS: nano-ZnO; glyphosate; oxidative and nitro-oxidative stress.

Отримано 12.05.2020