

**ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
СЫВОРОТКИ КРОВИ БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ МЫШЕЙ
ПОД ВЛИЯНИЕМ НАНОПОРОШКОВ МАРГАНЦА, ВВОДИМЫХ PER OS**

Ю.С. Чесовских

кафедра биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО
Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава РФ, г. Саратов, Россия

Резюме. Возможность применения нанопорошков биогенных элементов весьма актуальна для решения вопроса профилактики и лечения дефицита этих элементов в организме. Наноразмерные материалы имеют качественно новые свойства, поэтому биологический эффект в отношении организмов может принципиально отличаться. Экспериментально установлено, что пероральное введение нанопорошков марганца в диапазоне концентраций 0,05-5,0мг/кг мышам оказывает токсическое действие на организм. Введение нанопорошка марганца влияет на показатели углеводного обмена (в меньшей степени) и белкового обмена (в большей степени), а также способствует развитию цитолитических процессов, проявляющихся увеличением активности ферментов, таких как ЛДГ, ГГТ, АсАТ. АлАТ.

Ключевые слова: нанопорошки, биохимические показатели, марганец, ферменты, углеводный обмен, липидный обмен, белковый обмен.

**CHANGES IN BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM OF WHITE
MONGREL MICE UNDER THE INFLUENCE OF MANGANESE NANOPOWDERS
ADMINISTERED PER OS**

Yu.S. Chesovskikh

Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics of Saratov State Medical
University named after V.I. Razumovsky of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Saratov, Russia

Resume: The possibility of using nanopowders of biogenic elements is very relevant for solving the issue of prevention and treatment of deficiency of these elements in the body. Nanoscale materials have qualitatively new properties, so the biological effect on organisms may be fundamentally different. It has been experimentally established that oral administration of manganese nanopowders in the concentration range of 0.05-5.0mg/ kg to mice has a toxic effect on the body. The introduction of manganese nanopowder affects the indicators of carbohydrate metabolism (to a lesser extent) and protein metabolism (to a greater extent), and also contributes to the development of cytolytic processes, manifested by an increase in the activity of enzymes such as LDH, GGT, AsAT. AlAT.
Keywords: nanopowders, biochemical parameters, manganese, enzymes, carbohydrate metabolism, lipid metabolism, protein metabolism.

Введение. Марганец, как один из наиболее важных биогенных элементов, необходим для протекания обменных процессов в организме. В организме человека он образует комплексные соединения с белками и свободными аминокислотами, нуклеиновыми кислотами и нуклеотидами. Содержат марганец металлоферменты, такие, как аргиназа, холинэстераза, фосфоглюкомутаза, пируваткарбоксилаза [1].

Марганец способен замещать железо в порфириновом комплексе (геме) благодаря сопоставимости атомных радиусов железа и марганца, аналогично марганец способен замещать и цинк в цинкзависимых ферментах, оказывая влияние при этом их катализитические свойства.

Симптомами дефицита марганца являются повышенная утомляемость, слабость, головокружение, нарушения сократительной функции мышц, спазмы и судороги, боли в мышцах и прочее, что объясняется нарушением каталитической активности пируваткарбоксилазы и нарушением выработки АТФ в дальнейшем.

Избыток марганца в организме также имеет неблагоприятные последствия. Возможно развитие манганозов (синдром паркинсонизма, психические нарушения, энцефалопатия, нарушения функционирования желудочно-кишечного тракта), а также различные парестезии, замедленность и скованность движений [1].

Необходимость марганца для обеспечения нормальной жизнедеятельности организма обуславливает актуальность работ по поиску возможности применения нанопорошков марганца для восполнения его дефицита в организме с минимальными побочными эффектами или полным их отсутствием. Принимая во внимание, что наноразмерные материалы качественно отличаются по проявлению биологических свойств, изучение биологического эффекта на организм нанопорошков магния крайне актуален.

В научной литературе имеются данные по изучению действия на биологические объекты наночастиц оксида марганца. Наночастицы оксида марганца, а также их сочетания с гамма-облучением способны оказывать влияние на гликолиз клеток глиомы. Гликолиз клеток глиомы U-87 MG значительно снижался при инкубации в течение 48 ч с наночастицами оксида марганца. Было установлено, что через 72 ч после начала инкубации с наночастицами оксида марганца жизнеспособность глиом достоверно снижалась, что может быть полезным для разработки новой терапии и диагностики глиом [4].

Напротив, аналитическое обобщение молекулярно-биологических, биохимических, цитологических, токсикологических свойств наночастиц оксида марганца при ингаляционном поступлении в организм выявило негативные эффекты, возникающие при ингаляционном воздействии наночастиц оксида марганца [2, 9].

Инъекции суспензий наночастиц оксида марганца крысам в разных дозовых комбинациях на фоне перорального назначения «биопротекторного комплекса», в состав которого входили пектин, витамины А, С, Е, глутамат, глицин, N-ацетилцистеин, селен, йод и полиненасыщенные жирные кислоты, выявили, что наночастицы Mn₃O₄ найдены более вредными по большинству неспецифических проявлений токсичности [7]. Они вызывали более выраженное повреждение нейронов хвостатого ядра и гиппокампа, которое может рассматриваться как экспериментальная модель марганцевого паркинсонизма [7].

Некоторыми работами установлено, что наночастицы оксида марганца при внутрижелудочной и ингаляционной экспозиции обладают более высокой проникающей способностью и низкой эффективностью выведения из организма; профиль «критических» органов включает головной мозг, печень, селезенку, легкие; обуславливают функциональные нарушения критических систем и органов-мишеней (в виде нарушения баланса показателей окислительно-антиоксидантных процессов и нейромедиаторов при воздействии нанодисперсного MnO), имеющие дозозависимый характер [3].

В отношении биологического действия «чистых» наночастиц марганца экспериментальных работ крайне мало. Однако имеются данные, что использование в рационах коров комплекса наночастиц марганца в количестве 1 и 2 % от вносимых со стандартным рецептом премикса П 60-3 положительно влияет на гематологические показатели и продуктивность животных [6].

Цель исследования. Целью данной работы явилась оценка изменений биохимических показателей сыворотки крови при введении нанопорошка марганца в различных концентрациях перорально самцам белых беспородных мышей.

Материалы и методы. Ультрадисперсные нанопорошки марганца были получены на плазмохимической установке в лаборатории №33 филиала Федерального Государственного Управления РФ «Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии

элементоорганических соединений». Средний диаметр наночастиц варьировал в пределах 50-60 нм.

Экспериментальная работа была выполнена на самцах белых беспородных мышей в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики согласно национальному стандарту Российской Федерации (ГОСТ Р 53434-2009) и одобрена этическим комитетом. Возраст животных – 2 месяца, вес 20 ± 2 гр. Было сформировано 4 экспериментальные группы и одна контрольная. Все животные находились на стандартном рационе вивария, имели свободный доступ к воде и пище. Экспериментальным животным вводили исследуемые концентрации нанопорошка марганца: 1 группе – 0,05 мг/кг, 2 группе – 1,25 мг/кг, 3 группе – 2,50 мг/кг, 4 группе – 5,0 мг/кг ежесуточно в виде суспензий в растительном масле в объеме 10 мкл с помощью зонда. Продолжительность эксперимента – 6 дней. Предельно допустимая концентрация марганца не превышена. Пятая группа мышей служила контролем, животным вводилось растительное масло объемом 10 мкл ежесуточно. Предварительно суспензии наночастиц размешивались на магнитной мешалке для предотвращения оседания частиц и образований конгломератов.

По окончании эксперимента проводился забор и анализ крови, в которой определялись показатели, характеризующие обмен углеводов (концентрация глюкозы, лактата и пировиноградной кислоты (ПВК)), белков (содержание общего белка, альбуминов, креатинина и мочевины), липидов (концентрация холестерина), а также исследована активность в сыворотке крови ряда ферментов, таких, как аминотрансферазы: аланинаминотрансфераза (АлАТ) и аспартатаминотрансфераза (АсАТ), а также активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), амилазы и гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ) по общепринятым методикам [5]. Биохимический анализ производился с помощью стандартных наборов фирмы «Диакон ДС» и полуавтоматического анализатора «Hospitex», а полученные данные обработаны статистически согласно общепринятым методам [8] с использованием пакета программ Statistica v7.0.61.0. О достоверности отличий учитываемых показателей контрольной и опытной групп судили по величине t – критерия Стьюдента и p – уровню значимости. При $p\leq0,05$ различия считались статистически значимыми.

Результаты. Результаты биохимических исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Изменения биохимических показателей под влиянием перорального введения нанопорошка марганца

| Показатель | контроль | Концентрация нанопорошка марганца | | | |
|-------------------|-------------|-----------------------------------|--------------|-------------|--------------|
| | | 0,05мг/кг | 1,25мг/кг | 2,5мг/кг | 5,0мг/кг |
| | | M±m | M±m | M±m | M±m |
| Глюкоза, ммоль/л | 8,28±0,38 | 8,58±0,26 | 7,59±0,36 | 7,9±0,40 | 8,48±0,24 |
| Лактат, ммоль/л | 8,37±0,41 | 9,85±0,25 | 6,80±0,35 | 9,52±0,39 | 8,87±0,40 |
| ПВК, ммоль/л | 2,50±0,01 | 2,90±0,01 | 2,80±0,02 | 2,35±0,02 | 2,61±0,02 |
| общий белок, г/л | 156,12±4,00 | 120,05±2,20* | 104,23±7,31* | 76,40±5,65* | 112,33±7,21* |
| Альбумин, г/л | 73,02±3,54 | 62,15±2,12* | 67,24±1,15 | 45,01±1,30* | 48,21±2,01* |
| Мочевина, ммоль/л | 1,44±0,01 | 0,78±0,01* | 0,96±0,01* | 0,66±0,01* | 1,56±0,01 |

| | | | | | |
|---------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Креатинин, мкмоль/л | 390,25±5,20 | 330,05±3,17* | 200,62±5,15* | 290,27±4,18* | 260,25±4,78* |
| Холестерин, ммоль/л | 3,72±0,03 | 3,56±0,02 | 5,86±0,01* | 3,36±0,01 | 8,63±0,03* |
| АсАТ, МЕ | 120,46±7,12 | 820,52±8,65* | 480,18±6,12* | 280,62±4,52* | 440,22±3,19* |
| АлАТ, МЕ | 50,43±2,47 | 220,22±3,45* | 220,54±4,14* | 280,82±2,17* | 120,53±3,46* |
| ЛДГ, МЕ | 100,32±3,54 | 210,21±2,11* | 380,00±1,66* | 530,36±5,16* | 210,69±2,51* |
| ГГТ, МЕ | 60,00±4,17 | 70,20±1,17 | 82,31±1,69* | 120,22±4,32* | 160,06±3,28* |
| Амилаза, МЕ | 391,39±4,20 | 420,43±5,23* | 451,63±2,71* | 446,91±1,17* | 482,77±2,22* |

* - статистически достоверные отличия ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой животных

В ходе исследования по влиянию наночастиц марганца на изменения показателей, отражающих состояние углеводного обмена, было выявлено, что значительных изменений по содержанию в крови глюкозы, лактата и ПВК нет, но прослеживается тенденция к развитию анаэробного окисления глюкозы, т.к. концентрация лактата и ПВК незначительно повышалась, что может свидетельствовать о нарушении утилизации ПВК в реакциях окислительного декарбоксилирования с образованием ацетил-КоА и превращением последнего в цикле Кребса. Увеличение активности в крови амилазы под влиянием нанопорошка магния во всех экспериментальных группах может служить показателем воспаления поджелудочной железы, в результате которого угнетен углеводный обмен, в связи с чем усиливаются процессы глюконеогенеза и, как следствие, идет нарастание уровня лактата и пирувата в крови. В сыворотке крови экспериментальных животных также отмечается высокая активность ЛДГ, что также может служить показателем нарастания анаэробного процесса окисления глюкозы. Активность ЛДГ повышена в 3,8 раза и 5,3 раза при введении наночастиц марганца в концентрации 1,25 мг/кг и 2,50 мг/кг соответственно.

Изменение концентрации холестерина в сыворотке крови под влиянием наночастиц марганца также незначительно, небольшие изменения обнаруживаются только при введении нанопорошка в концентрациях 1,25 мг/кг и 5,0 мг/кг.

В ходе экспериментальной работы также установлено, что нанопорошки марганца оказывают существенное влияние на показатели белкового обмена. Выявлено существенное уменьшение концентрации общего белка в сыворотке крови при введении всех исследуемых концентраций нанопорошка, значимое снижение концентрации общего белка при введении наночастиц в концентрациях 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг (уровень белка снижен в 1, и 1,7 раза соответственно), при этом снижение наблюдается в альбуминовой фракции. Это позволяет предположить нарушение белок-синтезирующей функции организма. Вслед за снижением белка также снижен уровень мочевины во всех исследуемых группах животных по сравнению с контролем (см. табл.1). Во всех экспериментальных группах животных наблюдается стойкое снижение уровня креатинина в крови. Возможные проявления могут указывать на повреждающее действие нанопорошка марганца в отношении печени. Подтверждением тому является и увеличение активности в сыворотке крови индикаторных ферментов – трансаминаз.

Значительные изменения активности АсАТ по сравнению с контрольной группой животных наблюдались при введении наночастиц в концентрации 0,05 мг/кг (активность увеличена в 7 раз) и 1,25 мг/кг (активность увеличена в 3,8 раза). Активность АлАТ увеличена при введении всех исследуемых концентраций нанопорошка в 2-2,3 раза по сравнению с контрольной группой мышей. Отмечено достоверное увеличение активности в крови ГГТ, которое имеет прямопропорциональную зависимость от концентрации вводимых нанопорошков марганца.

Высокая активность исследуемых ферментов в крови обусловлена выходом их в кровь при нарушении клеточных мембран, следовательно, можно предположить, что нанопорошки марганца в концентрациях 0,05 – 5,0 мг/кг при пероральном их введении мышам способны

вызывать цитолиз, сопровождающийся выходом ферментов из поврежденных клеток, что характеризует данные наночастицы как гепато- и кардио-токсичные вещества.

Выводы. Пероральное введение нанопорошков марганца в диапазоне концентраций 0,05-5,0мг/кг мышам оказывает токсическое действие на организм. Введение нанопорошка марганца влияет на показатели углеводного обмена (в меньшей степени) и белкового обмена (в большей степени), а также способствует развитию цитолитических процессов, подтверждением чему является увеличение активности ферментов, таких, как ЛДГ, ГГТ, АсАТ. АлАТ.

Список литературы

1. Бочкарева И.И., Роль биогенных элементов в организме человека и применение их в медицине и фармации: учебное пособие для студентов фармацевтического факультета / И.И. Бочкарева, И.Н. Дьякова. – Майкоп: Качество, 2016. -127 с. Текст – непосредственный.
2. Зайцева Н.В. Негативные эффекты наночастиц оксида марганца при ингаляционном поступлении в организм / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, Т.И. Акафьева. – Текст непосредственный // Экология человека. - 2013. -№ 11. - С. 25-29. – Библиогр: с. 28-29 (24 назв).
3. Токсиколого-гигиеническая характеристика некоторых металлов содержащих наночастиц при различных способах экспозиции: бионакопление и морфофункциональные особенности воздействия / Н.В.Зайцева, М.А. Землянова, В.Н. Звездин, А.А. Довбыш. – Текст: непосредственный // Токсикологический вестник. - 2017.- № 1 (142). - С. 27-34. – Библиогр: с.34 (9 назв).
4. Влияние облучения и наночастиц оксида марганца на гликолиз клеток глиомы человека U-87 MG / Н.Б. Илларионова, Д.В. Петровский, И.А. Разумов, Е.Л. Завьялов. – Текст: непосредственный // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. –Т. 23, № 1. –С. 81-85. – Библиогр.: с 84-85 (22 назв).
5. Карпищенко А.И., Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник.– С- Пб: Интермедика, 1999. – 656 с. Текст – непосредственный.
6. Козинец А.И. Наночастицы микроэлементов в рационах коров / А.И. Козинец, О.Г. Голушко, М.А. Надаринская, Т.Г. Козинец – Текст: непосредственный// Современные технологии сельскохозяйственного производства: сборник научных статей по материалам XXII Международной научно-практической конференции (Гродно, 16 мая, 13 июня 2019 года): ветеринария, зоотехния / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, УО "Гродненский государственный аграрный университет". - Гродно: ГГАУ, 2019. - С. 142-144. - Библиогр. в конце ст. - ISBN 978-985-537-136-7.
7. Комбинированная субхроническая токсичность наночастиц оксидов никеля и марганца и ее ослабление от комплекса биопротекторов / И.А. Минигалиева, Л.И. Привалова, М.П. Сутункова [и др.] – Текст: непосредственный //Медицина труда и промышленная экология. - 2016. № 10.- С. 25-29. – Библиогр: с. 27-29 (26назв).
8. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю.Реброва. – Москва: МедиаСфера, 2002. – 312 с. ISBN 5-89084-013-4. Текст – непосредственный.
9. Нейрональный транспорт наночастиц и нейротоксические эффекты соединений марганца / А.В. Ромашенко, Е.Ю. Баженова, М.Б. Шарапова [и др.] – Текст: непосредственный // Известия вузов. Физика. -2015. -Т. 58. -№ 12-2.- С. 90-97. -Библиогр: с.96-97(19 назв).