

печінку, а іони Fe в основному зв'язуються  $\beta$ -глобуліновою білковою фракцією (феритином, трансфериним, гемосидерином). Залізо також впливає на синтез імуноглобулінів.

Білки фібриноген і тромбопластин є важливими компонентами системи крові. Відомо, що залізо і мідь впливають на процес згортання крові. Збільшення концентрації міді і заліза в крові корелює з підвищенням вмісту фібриногену. Суттєвої різниці між впливом HCFe і HCSu на білки згортання крові (фібриноген і тромбопластин) не встановлено.

Запропонований метод є експрес-тестом для оцінки токсичності наночастинок металів та доповнює дані щодо механізму їх біологічної активності, отже може бути включений до комплексного токсикологічного тестування безпечності НЧ металів і металовмісних наноматеріалів.

Метод розроблено і запропоновано на підставі даних, отриманих в експериментах, виконаних в рамках НДР: «Альтернативні методи в сучасній токсикології та їх використання в комплексній оцінці токсичної дії сполук важких металів» (№ держреєстрації 0107U000838); «Наукове обґрунтування принципів, методів і показників експериментальної оцінки токсичності наночастинок і наноматеріалів (на прикладі важких металів)» (№ держреєстрації 0113U001447); «Дослідження особливостей токсичної дії наночастинок важких металів, пошук та обґрунтування засобів профілактики» (№ держреєстрації 0116U000497). Результати досліджень обраховані методами варіаційної статистики.

За додатковою інформацією з проблеми звертатись до провідного наукового співробітника лабораторії промислової токсикології і гігієни праці при використанні хімічних речовин ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН», д.б.н., с.н.с. Дмитруха Н.М., тел. (044) 289-51-85, 095-273-98-67; e-mail: [dmytrukha@ukr.net](mailto:dmytrukha@ukr.net).

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**Український центр наукової медичної інформації**  
**та патентно-ліцензійної роботи**  
**(Укрмедпатентінформ)**

**ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ**

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 184 - 2020

Випуск з проблеми  
«Гігієна праці та профзахворювання»  
Підстава: рішення ПК  
«Гігієна праці та профзахворювання»  
Протокол № 2 від 15.09.2020 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:  
ГІГІЄНА ПРАЦІ ТА ПРОФЗАХВОРЮВАННЯ,  
ПРОМИСЛОВА ТОКСИКОЛОГІЯ

**МЕТОД ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ СОЛЕЙ ТА НАНОЧАСТИНОК**  
**ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА МОДЕЛІ БЛІКІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ЛЮДИНИ**

**УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:**

ДУ «ІНСТИТУТ МЕДИЦИНИ ПРАЦІ ІМЕНІ  
Ю.І.КУНДІЄВА НАМН»

**УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ**  
**МОЗ УКРАЇНИ**

**А В Т О Р И:**

д.б.н., с.н.с. Дмитруха Н.М.  
м.н.с. Лагутіна О.С.  
м.н.с. Губар І.В.  
м.н.с. Легкоступ Л.А.

Відповідальний за випуск: О. Мислицький  
Підписано до друку 23.12.2020 Друк. арк. 0,13. Обл.-вид. арк. 0,08. Тир. 112 прим.

Замовлення № 184. Фотоофсетна лаб. Укрмедпатентінформ МОЗ України,  
04071, м. Київ, вул. Межигірська, 43, каб. 46.

м. Київ

**Суть впровадження:** експрес–метод оцінки токсичності та біологічної активності наночастинок металів та їх сполук.

Пропонується для впровадження в практику науково-дослідних установ гігієнічного та токсикологічного профілю як експрес-метод визначення інтегральної токсичності наночастинок металів та наноматеріалів з метою оцінки їх несприятливої дії на організм людини.

Серед штучно синтезованих наноматеріалів наночастинки біогенних металів займають чільне місце. Підвищення каталітичної і реакційної здатності металів у формі нанодисперсій сприяло використанню їх у різних сферах діяльності людини, в тому числі медицині й фармації. В свою чергу надходження НЧ металів в організм людини, відсутність даних стосовно їх безпечності, створює певні ризики, що потребують детального вивчення.

Сьогодні у токсикологічних дослідження поряд із традиційними експериментами на лабораторних тваринах використовують альтернативні методи і тест-об'єкти на клітинному (культура клітин) та молекулярному рівнях (білки, ферменти).

Відомо, що токсична дія важких металів проявляється вираженими порушеннями колоїдних систем, блокуванням активних центрів білків, їх денатурацією та осадженням, що визначається підвищенням або зниженням показників оптичної густини розчину. Встановлено, що метали у формі наночастинок, які володіють високою поверхневою енергією, можуть руйнувати ковалентні зв'язки білків, а також адсорбувати їх на своїй поверхні. Останнє визначає їх подальший розподіл між тканинами і органами, опсонізацію і фагоцитоз, швидкість виведення з організму. Білки збільшують розчинність НЧ металів, які також можуть впливати на білкові молекули, окислювати їх бічні групи, змінювати нативну структуру, утворювати агрегати та порушувати функціональну активність.

Запропонований експрес–метод оцінки токсичності НЧ металів на білках плазми крові ґрунтується на вимірюванні оптичної густини розчину, яка змінюється в наслідок порушення нативної структури білка після інкубації з НЧ металів в умовах *in vitro*.

Дослідження проводили на білках, що виконують в організмі різні функції: альбумін (транспортна і осмотична), імуноглобулін G, лізоцим (захисна), фібриноген, тромбопластин (регуляція агрегатного стану крові). Для дослідження готували розчини білків на 0,9% NaCl з кінцевою концентрацією 1 мг/мл, а також серію розведень НЧ металів у деіонізованій воді. Розчин білка змішували з розчином НЧ металу у співвідношенні 1:1. У якості негативного контролю використовували 0,9% розчин NaCl, а позитивного - 0,1M розчин HCl. Пробірки з контрольними і дослідними пробами інкубували в термостаті протягом 2 год. при 37°C. Оптичну густину розчинів досліджуваних проб вимірювали по відношенню до негативного контролю на спектрофотометрі при довжині хвилі 405 нм. Ступінь денатурації білків крові розраховували за формулою:

$$X = (ОГ_{дп} / ОГ_{пк}) \times 100\%, \text{ де}$$

X- % денатурації;

ОГ дп – оптична густина дослідної проби;

ОГ пк – оптична густина позитивного контролю.

Нами досліджено вплив НЧ металів, що синтезовані хімічним способом в Інституті біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України та цитратів металів, отриманих ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології». Результати виконаних досліджень показали, що білки крові по різному реагували на вплив НЧ металів. Встановлено, що НЧFe розміром 20 нм були більш активними по відношенню до імуноглобуліну G та фібриногену, а НЧCu 40 нм - до альбуміну (рис.)

Порушення нативної структури білків і відповідно зміни показників оптичної густини розчинів залежали від концентрації НЧ металів у розчині. Відсоток денатурації альбуміну за впливу НЧCu у найвищій концентрації (0,4 мг/мл за металом) становив 76,7%, а імуноглобуліну - 70,9%. Денатурація альбуміну після впливу найбільшої

концентрації НЧFe (0,5 мг/мл) становила 61,7% а імуноглобуліну G - 86,9 %. Найменша концентрація НЧCu (0,013 мг/мл) при додаванні до альбуміну викликала порушення його структури на рівні 23,5%, а імуноглобуліну G – 9,3%. НЧFe у низькій дозі (0,015 мг/мл) викликали денатурацію альбуміну - 5,8%, імуноглобуліну G - 5,2%. НЧCu і НЧFe чинили приблизно однакову за направленістю дію на фібриноген і тромбопластин. Найнижчі дози НЧCu і НЧFe викликали денатурацію фібриногену (4,18% і 5,0%) і тромбопластину (8,29% і 10,65% відповідно) (рис.)

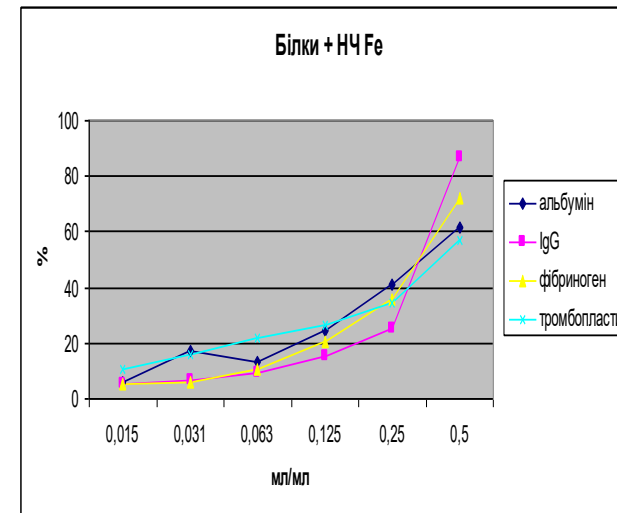
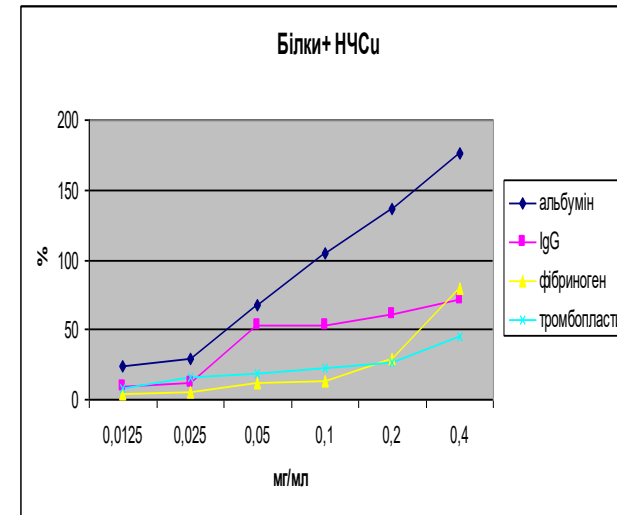


Рисунок - Денатурація (у %) білків плазми крові людини після 2-х годин інкубації з НЧCu і НЧFe (в різних концентраціях за металом).

Активність НЧCu до альбуміну, а НЧFe до імуноглобуліну можна пояснити тим, що іони Cu, які надходять у кров, зв'язуються альбуміном і транспортуються далі в