

ВИЯВЛЕННЯ ПОШКОДЖУЮЧОЇ ДІЇ НАНОМАТЕРІАЛІВ ШЛЯХОМ ОЦІНКИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ МЕМБРАННИХ ЛІПІДІВ СПЕРМАТОЗОЇДІВ БИКА IN VITRO

Демецька Олександра Віталіївна

кандидат біологічних наук

доцент кафедри медицини праці, психофізіології та медичної екології
Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика

Рябовол Василь Миколайович

аспірант кафедри гігієни та екології №2

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Діденко Марія Миколаївна

кандидат біологічних наук

старший науковий співробітник

ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва»

Необхідність постійного вдосконалення альтернативних методів тестування токсичності наноматеріалів *in vitro* визначається високою швидкістю розвитку нанотехнологій, а сучасні альтернативні методи тестування речовин хімічного та біологічного походження, в тому числі й наноматеріалів, у багатьох випадках мають стати заміною загальноприйнятим токсикологічним дослідям на лабораторних тваринах. Токсичність наночастинок зумовлена, насамперед, розвитком оксидативного стресу, перекисним окисненням мембран з подальшим збільшенням їх проникності, порушенням функцій та руйнуванням [1].

Вибір як тест-об'єкту сперматозоїдів обумовлений тим, що незважаючи на порівняно короткий (до декількох годин) період життя, їх біологічні особливості (плазматична мембрана і акросома, що представляють собою ліпопротейні та глікопротейні утворення, щільність упаковки білків і нуклеїнових кислот в ядрі, малий вміст води, низький рівень метаболізму в нерухомому стані) зумовлюють велику стійкість до зовнішніх впливів. У той же час, сперматозоїди більш чутливі до оксидативного стресу, ніж інші клітини, через велику кількість поліненасичених жирних кислот, які легко піддаються перекисному окисненню, незначну кількість цитоплазми, що містить низьку концентрацію ДНК-відновлювальних систем та антиоксидантних ензимів, які виявляються нездатними захистити клітинну мембрану на рівні хвоста і акросоми. Накопичення перекисів ліпідів у тканинах супроводжується руйнуванням молекулярної структури клітинних мембран, найважливішими компонентами яких є фосфоліпіди. Інтенсифікація процесів перекисного окислення ліпідів залежить від ступеня пошкодження мембран сперматозоїдів.

Було оцінено пошкоджуючу дію наступних наноматеріалів: комплексу оксиду титану, допованого сріблом (наноккомпозит TiO_2+Ag , масова частка $\text{Ag} \sim 4$ мас.%, середній аеродинамічний діаметр частинок у розчині становив 43,9 нм), та нанопорошку оксиду титану (TiO_2), синтезованого методом термічного розкладу (середній аеродинамічний діаметр частинок у розчині становив 46,84 нм), які було стабілізовано глюкозо-цитратним буфером (розмір частинок визначали методом динамічного розсіювання світла за допомогою приладу DinaSizer («Fritsch», Німеччина). В якості скринінгового методу визначення токсичності та пошкоджувальної дії наноматеріалів *in vitro* з використанням як тест-об'єкту сперматозоїдів великої рогатої худоби було адаптовано та використано відомий метод вилучення фосфоліпідів з мозку щурів [2]. Визначення оптичної густини отриманих фосфоліпідних екстрактів за допомогою приладу спектрофотометр ULAB 101UV (при довжині хвилі 540 нм) свідчить на користь руйнування молекулярної структури мембран сперматозоїдів, що були експоновані наноматеріалами, та вивільнення фосфоліпідів.

Отримані результати кореспондують із даними морфологічного аналізу аномалій сперматозоїдів, експонованих досліджуваними наноматеріалами: частка їх дефектів була значно більшою у дослідних зразках (61% при впливі наноккомпозиту TiO_2+Ag та 39% при впливі TiO_2) порівняно із контролем (20%). При оцінці головки сперматозоїдів було зазначено її набряк та відсутність акросомальної області, яка частіше виявлялась у всіх спостереженнях. Дефекти хвоста сперматозоїдів характеризувалися його вкороченням, закрученням та набряком, що вказує на їх низьку рухливість. Крім цього визначалася агрегація сперматозоїдів (їх скупчення), що додатково свідчить про їх патологічний стан. Після експозиції сперматозоїдів наноккомпозитом TiO_2+Ag виявлено значну кількість залишкових тілець, що є результатом загибелі клітин. Зазначені зміни, поряд із виявленими аномаліями сперматозоїдів, свідчать на користь більш вираженого патологічного впливу наноккомпозиту TiO_2+Ag .

Таким чином, запропонований експрес-спосіб може бути використаний в якості скринінгового при дослідженнях наноматеріалів *in vitro*.

Список літератури:

1. Horie M., Tabei Y. Role of oxidative stress in nanoparticles toxicity. Free Radic Res. 2020 Dec 18:1-12. doi: 10.1080/10715762.2020.1859108
2. Folch J., Lees M., Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem. 1957 May;226(1):497-509.