

УДК: 621.3.049.77

Л.Я. Этманова,¹ Л.Г. Тертычная,¹ Е.В. Егоршина,¹
Е.А. Уточкина,¹ Т.В. Кокина,¹ Г.А. Куприянова,¹
М.А. Штарберг,¹ Е.А. Бородин,¹ К.С. Голохваст²ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России¹

г. Благовещенск

ФГАОУ ВО Дальневосточный

федеральный университет²

г. Владивосток

**АНТИОКСИДАНТНЫЙ ЭФФЕКТ
И СОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА
НАНОМИНЕРАЛОВ**

Наночастицы многих природных минералов способны оказывать токсическое действие на организм, одним из механизмов которого является влияние на процессы свободнорадикального окисления [1,2]. В настоящей работе проведено исследование влияния природных наноминералов (α -кварца, полевого шпата и вулканического стекла) на процесс перекисного окисления липидов в микросомах печени *in vitro* и способности наноминералов сорбировать ионы Fe^{2+} в качестве возможной причины антиоксидантного эффекта.

Материалы и методы исследования Выделение фракции микросом В исследовании использованы беспородные белые крысы. После забоя животным вскрывали грудную и брюшную полости и в нижнюю полую вену через сердце вводили канюлю. Для удаления гемоглобина печень *in situ* перфузировали 0,15М раствором KCl, содержащим 5мМ трис-HCl буфер, pH 7,4, до светло-желтого цвета. Печень удаляли, отжимали на марлевой салфетке, взвешивали и измельчали ножницами. Гомогенат приготавливали в гомогенизаторе Даунса с тефлоновым пестиком при отношении массы ткани к объему раствора указанного выше состава как 1:3. Гомогенизирование проводили в течение одной минуты при двадцати движениях пестика вверх и вниз. Все процедуры проводили используя растворы, охлажденные до 4°C. Для выделения фракции микросом гомогенат центрифугировали при 9500g в течение 20 минут при 3°C на лабораторной охлаждающей центрифуге K24D

Резюме Наноминералы (α -кварц, полевой шпат и вулканическое стекло) оказывают антиоксидантный эффект на процесс перекисного окисления липидов в микросомах печени крыс. Для объяснения этого эффект исследовали способность наноминералов адсорбировать ионы Fe^{2+} из водного раствора. Изученные минералы действительно способны адсорбировать ионы Fe^{2+} , что согласуется с их антиоксидантным эффектом. Однако, не установлено прямой зависимости между выраженностью антиоксидантного эффекта минерала и его способностью к сорбции ионов Fe^{2+} . α -кварц обладает наиболее выраженным антиоксидантным действием и наименьшими сорбционными свойствами. Из трех изученных минералов полевой шпат наиболее эффективно поглощает Fe^{2+} и проявляет самый низкий антиоксидантный эффект.

Ключевые слова: наноминералы, α -кварц, полевой шпат, вулканическое стекло, антиоксидантный эффект, сорбция, ионы железа.

(Германия). Надосадочную жидкость подвергали дальнейшему центрифугированию при 24000g в течение 120 минут при 3°C. Осадок микросом ресуспендировали в среде выделения до содержания белка 20-25 мг/мл и в дальнейшем использовали в работе. Образцы минералов - (α -кварца, полевого шпата и вулканического стекла, раздробленных до наноразмерного состояния, были любезно предоставлены К.С. Голохвастом (ДВФУ).

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) в суспензии микросом ПОЛ в суспензии микросом объемом 1 мл, содержащей 0,8 мМ аскорбат (или 1 мМ НАДФН); 0,2 мМ пиродифосфат натрия; 50 мМ трис-HCl буфер, pH 7,4; 1,0 мг белка микросом инициировали внесением ионов Fe^{2+} в конечной концентрации 12 мкМ. Продолжительность инкубации - 5 минут для аскорбат-зависимого и 20 минут для НАДФН-зависимого ПОЛ, температура 37°C. Реакцию останавливали добавлением 30% раствора ТХУ с ЭДТА в конечной концентрации 1,5 мМ. При исследовании антиокислительной активности (АОА) наноминералов в инкубационную смесь вносили минералы в количестве 10 мг. В отдельном опыте варьировали количество вносимого α -кварца в пределах 1-50 мг. О скорости ПОЛ судили по образованию малонового диальдегида (МДА), определяемого по цветной реакции с

$$AOA = \frac{MDA \text{ контроль} - MDA \text{ опыт}}{MDA \text{ контроль}} * 100\%$$

тиобарбитуровой кислотой [3]. Антиоксидантный эффект наноминералов рассчитывали по формуле:

где АОА – антиокислительная активность; МДА контроль – образование МДА в микросомах; МДА опыт – образование МДА в микросомах в присутствии наноминерала.

Сорбция ионов Fe^{2+} миинералами К 1 мл 1,28 мМ Fe^{2+} добавляли от 10 до 100 мг минерала. Тщательно перемешивали содержимое пробирки в течение нескольких минут. Далее смесь центрифугировали для осаждения минерала, отбирали 0,1 мл надосадка и определяли в нем содержание ионов Fe^{2+} по цветной реакции с $K_3[Fe(CN)_6]$.

ANTIOXIDANT EFFECT AND SORPTION PROPERTIES OF NANOMINERALSL.Ya. Etmanova,¹ L.G. Tertychnaya,¹ E.V. Egorshina,¹ E.A. Utchokina,¹ T.V. Kokina,¹ G.A. Kupriyanova,¹ M.A. Shtarberg,¹ E.A. Borodin,¹ K.S. Golokhvast²FGBOU VO Amur State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia,¹ Blagoveshchensk; FGAOU VO Far Eastern Federal University,² Vladivostok

Abstract Nanominerals (α -quartz, feldspar and volcanic glass) exert antioxidant effect on the process of lipid peroxidation in microsomes of the rat liver. To explain this effect, we investigated the ability of nanominerals to adsorb Fe^{2+} ions from an aqueous solution. The minerals studied are indeed capable to adsorb Fe^{2+} ions and this is consistent with their antioxidant effect. However, there is no direct relationship between the strength of the antioxidant effect of the mineral and its ability to sorption of Fe^{2+} . α -quartz has the most pronounced antioxidant effect and has the least sorption properties. Among the three minerals studied, feldspar most effectively sorbs Fe^{2+} and exhibits the lowest antioxidant effect.

Key words: nanominerals, α -quartz, feldspar, volcanic glass, antioxidant effect, sorption, iron ions.

DOI 10.22448/AMJ.2018.4.54-56

Таблица 1. Влияние наноминералов в концентрации 10 мг/мл инкубационной смеси на скорость аскорбат-зависимого ПОЛ в микросомах печени (представлены средние значения и ошибки средних)

	Микросомы	Микросомы + α-кварц	Микросомы + полевой шпат	Микросомы + вулканическое стекло
Скорость ПОЛ (нмоль МДА мин ⁻¹ мг ⁻¹ белка микросом)	3,1±0,24	1,8±0,11	2,5±0,15	2,1±
Антиокислительный эффект наноминералов (%)		41	19	33

Таблица 2. Влияние наноминералов на скорость НАДФН-зависимого ПОЛ в микросомах печени (представлены средние значения и ошибки средних)

	Микросомы	Микросомы + α-кварц	Микросомы + полевой шпат	Микросомы + вулканическое стекло
Скорость ПОЛ (нмоль МДА мин ⁻¹ мг ⁻¹ белка микросом)	0,26±0,016	0,09±0,01	0,24±0,013	0,18±0,015
Антиокислительный эффект наноминералов (%)		65	7	30

Результаты исследования Как видно из полученных результатов (табл. 1) скорость неферментативного аскорбат-зависимого ПОЛ в суспензии микросом снижается в присутствии всех наноминералов 3,1 нмоль МДА мин⁻¹ мг⁻¹ белка микросом до 1,8-2,5 нмоль МДА мин⁻¹ мг⁻¹ белка микросом. Наибольший антиоксидантный эффект (41%) оказывает α-кварц, а наименьший (19%) - полевой шпат.

Аналогичный эффект оказывают наноминералы и на ферментативное НАДФН-зависимое ПОЛ в суспензии микросом (табл. 2). Как и в случае аскорбат-зависимого ПОЛ, антиоксидантный эффект при НАДФН-зависимом ПОЛ сильнее всего выражен у α-кварца (65%), меньше у вулканического стекла (30%) и еще меньше (7%) - у полевого шпата.

Мы исследовали зависимость влияния α-кварца на скорость аскорбат-зависимого ПОЛ в микросомах печени от его концентрации в инкубационной смеси (табл. 3). В данном опыте скорость ПОЛ в микросомах составила 2,21 нмоль МДА мин⁻¹ мг⁻¹ белка микросом. При увеличении концентрации α-кварца в инкубационной смеси с 1 до 50 мг/мл скорость ПОЛ снизилась до 2,17-0,33 нмоль МДА мин⁻¹ мг⁻¹ белка микросом, а антиоксидантный эффект увеличился с 2 до 85%.

Таким образом, при исследовании влияния α-кварца, полевого шпата и вулканического стекла на ПОЛ в микросомах печени крыс *in vitro* все 3 наноминерала оказывают антиоксидантный эффект как при неферментативном, так и при ферментативном ПОЛ. Антиоксидантный эффект выражен сильнее всего у α-кварца и меньше всего - у полевого шпата. Сила эффекта пропорциональна концентрации α-кварца в инкубационной смеси.

На первый взгляд установленный нами антиоксидантный эффект наноминералов и особенно α-кварца при ПОЛ в микросомах печени представляется весьма неожиданным и объяснить его механизм затруднительно. Вряд ли использованные минералы обладают восстанавливающими свойствами и являются истинными антиоксидантами, т.е. ловушками свободных радикалов. В качестве причины эффекта можно представить сорбцию минералами каких-либо компонентов, необходимых для протекания процесса ПОЛ, например ионов Fe²⁺. Мы проверили это предположение, исследовав способность минералов сорбировать ионы Fe²⁺.

Для исследования сорбции ионов Fe²⁺ использованными в работе минералами, нами разработан метод количественного определения

ионов Fe²⁺ по качественной реакции на ионы Fe²⁺ с K₃[Fe(CN)₆]. При относительно низких концентрациях ионов Fe²⁺ и K₃[Fe(CN)₆] не происходит выпадения осадка берлинской лазури и реакция сопровождается лишь развитием сине-голубого окрашивания с максимумом при 693 нм. Спектр поглощения цветного продукта не перекрывается с пиком поглощения K₃[Fe(CN)₆], максимум которого отмечается при 420 нм. Использованная нами концентрация K₃[Fe(CN)₆] 50 мг/100 мл. Объем инкубационной смеси 3 мл. Линейная зависимость интенсивности развивающейся окраски от количества вносимого Fe²⁺ отмечается в диапазоне количества вносимого Fe²⁺ от 20 до 180 нмоль (рис. 1). Из калибровочного графика мы рассчитали коэффициент мольной экстинкции образующегося цветного комплекса, составивший 7150 ед ОП М⁻¹ см⁻¹.

Первоначально для исследования сорбции ионов Fe²⁺ мы брали 100 мг минералов. Как видно из представленных в таблице 4 результатов, в выбранных экспериментальных условиях полевой шпат сорбировал практически все железо, вулканическое стекло сорбировало 98% железа, а α-кварц только 28%. При исследовании сорбции ионов Fe²⁺ различными количествами полевого шпата (10-50 мг) установлено, что процент сорбции возрастает с увеличением количества минерала. 1 мг минерала сорбирует 1,2-1,3 нмоль Fe²⁺ (табл. 5).

Таким образом, исследованные минералы действительно способны сорбировать ионы Fe²⁺ и это согласуется с их антиоксидантным эффектом при ПОЛ в микросомах печени. Однако не выявлено прямой зависимости между выраженностью антиоксидантного эффекта минерала и его

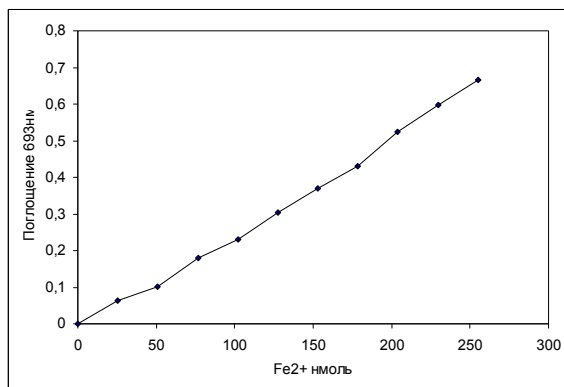


Рисунок 1. Калибровочный график для определения ионов Fe²⁺ по цветной реакции с K₃[Fe(CN)₆].

Таблица 3. Зависимость влияния α -кварца на скорость аскорбат-зависимого ПОЛ в микросомах печени от его концентрации в инкубационной смеси (представлены средние значения и ошибки средних)

	Микросомы	Микросомы + α -кварц (1мг/мл)	Микросомы + α -кварц (5мг/мл)	Микросомы + α -кварц (10мг/мл)	Микросомы + α -кварц (50мг/мл)
Скорость ПОЛ (нмоль МДА мин ⁻¹ г ⁻¹ белка микросом)	2,21±0,17	2,17±0,016	1,40±0,011	0,84±0,091	0,33±0,039
Антиокислительный эффект		2	37	62	85

Таблица 4. Сорбция ионов Fe²⁺ наноминералами (100 мг наноминерала) (представлены результаты типичного опыта)

	Исходный раствор ионов Fe ²⁺	α -кварц	полевой шпат	вулканическое стекло
нмоль Fe ²⁺ в растворе	100	72	1	8
Сорбировано Fe ²⁺ (нмоль)	-	28	99	92
% сорбции		28	99	92

Таблица 5. Зависимость сорбции ионов Fe²⁺ полевым шпатом от количества наноминерала (представлены результаты типичного опыта)

	Исходный раствор ионов Fe ²⁺	Полевой шпат				
		10 мг	20 мг	30 мг	40 мг	50 мг
нмоль Fe ²⁺ в растворе	120	106	105	84	71	55
Сорбировано Fe ²⁺ (нмоль)	-	14	15	36	49	65
% сорбции	-	12	13	30	41	54
Сорбировано Fe ²⁺ (нмоль/ мг наноминерала)	-			1,2	1,23	1,3

способностью к сорбции Fe²⁺. Так, α -кварц оказывает наиболее выраженный антиоксидантный эффект и обладает наименьшими сорбционными свойствами. Из трех исследованных минералов полевой шпат наиболее эффективно сорбирует Fe²⁺ и проявляет наименьший антиоксидантный эффект. Кроме этого необходимо учитывать, что концентрация ионов Fe²⁺ в инкубационной смеси при иницировании ПОЛ (12 мкМ) была на 2 порядка ниже их концентрации в растворе при исследовании сорбции ионов Fe²⁺ минералами. Следовательно, объяснить выявленные антиоксидантные свойства минералов при ПОЛ в микросомах печени исключительно способностью минералов сорбировать ионы железа не представляется возможным.

Выводы

1. Наночастицы α -кварца, полевого шпата и вулканического стекла оказывают антиоксидантный эффект при иницировании аскорбат- и НАДФН-зависимого ПОЛ в микросомах печени крыс *in vitro*.
2. Антиоксидантный эффект выражен сильнее всего у α -кварца и меньше всего у полевого шпата.
3. Сила эффекта пропорциональна концентрации α -кварца в инкубационной смеси.
4. Антиоксидантный эффект минералов коррелирует с обнаруженной у них способностью сорбировать ионы Fe²⁺, однако не выявлено прямой зависимости между выраженностью антиоксидантного эффекта минерала и его способностью к сорбции Fe²⁺.

Литература

1. Голохваст К. С., Паничев А. М., Гульков А. Н., Мишаков И. В., Ведягин А. А. Антиоксидантные и иммуномодулирующие свойства природных цеолитов // Тихоокеанский медицинский журнал. 2009. №3. С. 68-70.
2. Голохваст К. С., Бородин Е. А., Штарберг М. А., Памирский И. Э. и др. Антиоксидантный эффект нано- и микрочастиц типичных компонентов природных воздушных взвесей *in vitro* // Известия Самарского научного центра Российской

академии наук. 2010 т. 12. № 1(7). С. 1732-1736.
З. Бородин Е. А., Бородина Г. П., Доровских В. А., Дорошенко Г. К. и др. Перекисное окисление липидов в мембранах эритроцитов и микросом печени и антиокислительная система тканей крыс при длительном действии холода // Биологические мембраны. 1992. Т. 9, №6. С. 622-627. Статья поступила в редакцию 10.11.2018

Координаты для связи

Этманова Любовь Яковлевна, ассистент каф. химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.
Тертычная Лариса Григорьевна, к. м. н., ассистент каф. химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.
Егоршина Елена Владимировна, к. м. н., ассистент каф. химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: egorshina_elena@mail.ru.
Уточкина Елена Александровна, к. т. н., ассистент каф. химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: elenautochkina@mail.ru.
Кокина Тамара Владимировна, ассистент каф. химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.
Куприянова Галина Андреевна, к. м. н., ассистент каф. химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.
Штарберг Михаил Анатольевич, к. м. н., ст. науч. сотр. ЦНИЛ ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: shtarberg@mail.ru.
Бородин Евгений Александрович, д. м. н., профессор, зав. каф. химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: borodin54@mail.ru
Почтовый адрес ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России: г. Благовещенск, ул. Горького, 95. E-mail: science.prorector@AmurSMA.su
Голохваст Кирилл Сергеевич, д. б. н., профессор РАН, проектор по научной работе ФГАУ ВО ДВФУ. E-mail: golokhvast.ks@dvmfu.ru
Почтовый адрес ФГАУ ВО ДВФУ: 690920, Приморский край, Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10, кампус ДВФУ.