

Выводы.

1. Предварительная 60-минутная инкубация цельной крови с метформином приводит к снижению резистентности эритроцитов к гипотоническим растворам. Обнаруженный эффект имеет линейный дозозависимый характер в интервале конечных концентраций метформина от 3 мМ до 10 мМ.

2. Влияние метформина на ОПЭ может быть опосредовано интенсификацией свободно-радикальных процессов за счет истощения внутриклеточного пула восстановленного глутатиона.

Список литературы / References:

1. Wang J., Gallagher D., DeVito L.M. [et al.] Metformin activates an atypical PKC-CBP pathway to promote neurogenesis and enhance spatial memory formation. *Cell Stem Cell*, 2012, vol. 11, no. 1, pp. 23-35.

2. Рыкова О.В. Диагноз СПКЯ – диагноз исключения. Современные лабораторные возможности. *Медицинские аспекты здоровья женщины*, 2014, т. 2/1, № 77, 69 с. [Rykova O.V. Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome - a diagnosis of exclusion. Modern laboratory capacity. *Medical aspects of women's health*, 2014, vol. 2/1, no. 77, 69 p. (In Russ.)]

3. Демидова И.Ю., Горохова Т.В. Механизм действия и клиническое применение метформина. *Фарматека*, 2009, т. 17, с. 12-13. [Demidova I.Yu., Gorohova T.V. The mechanism of action and clinical use of metformin. *Farmateka*, 2009, vol. 17, pp. 12-13. (In Russ.)]

4. Shawn M., Cripps R. Diabetes Mellitus and Increased Risk of Cancer: Focus on Metformin and the Insulin Analogs. *Pharmacotherapy*, 2010, vol. 30, no. 11, pp. 1159-1178.

5. Медведев Б.И., Помаскин И.Н., Николаева И.С., Маркина О.К. Адренореактивность эритроцитов в динамике развития неосложненной беременности и лечении угрозы преждевременных родов. *Вестник Южно-Уральского государственного университета*, 2009, т. 39, № 172, 125 с. [Medvedev B.I., Pomaskin I.N., Nikolaeva I.S. Markina O.K. Adrenoreactivity erythrocytes in dynamics of uncomplicated pregnancy and the treatment of preterm labor. *Bulletin of South Ural State University*, 2009, vol. 39, no. 172, 125 p. (In Russ.)]

6. Смирнова О.М. Место метформина в современном лечении профилактике сахарного диабета 2 типа. *Сахарный диабет*, 2010, т. 3, с. 83. [Smirnova O.M. Place of metformin in the modern treatment of prevention of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2010, vol. 3, p. 83. (In Russ.)]

7. Крысова А.В., Куншин А.А., Циркин В.И. Половые особенности осмотической резистентности эритроцитов человека, выявляемые при экспозиции эритроцитов в дистиллированной воде. *Физиология Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*, 2011, т. 2, № 2, с. 266-272. [Krysova A.V., Kunshin A.A., Tsirkin V.I. Sexual peculiarities of osmotic resistance of human erythrocytes, detected with an exposure of erythrocytes in distilled water. *Physiology Herald of Nizhgorodsky University of N.I. Lobachevsky*, 2011, vol. 2, no. 2, pp. 266-272. (In Russ.)]

8. Gritti M. [et al.] Metformin repositioning as antitumoral agent: selective antiproliferative effects in human glioblastoma stem cells, via inhibition of CLIC1-mediated ion current. *Oncotarget*, 2014, vol. 5, no. 22, pp. 11252-11268.

**ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МАЛОРАЗМЕРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
ЦИНКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ**

Ларин С.Л., Будко Е.В., Хабаров А.А.

Курский государственный медицинский университет

ул. Карла Маркса, 3, г. Курск, 305041, РФ

e-mail: sergeilarin.kursk@gmail.com

Аннотация. Проведено сравнительное изучение *in vivo* накопления и распределения малоразмерных соединений цинка: Zn(OH)₂ (размер частиц 2-3 нм, далее – ZN-НЧ), ZnO (размер частиц 1,0-0,9 мкм, далее – ZN-МЧ) полученных модифицированным конденсационным методом. Эксперимент проведен в четырех группах крыс Wistar, определение содержания Zn²⁺ проводилось методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) после внутрижелудочного введения один раз в сутки в течение 7 дней. Выявлен сопоставимый уровень всасывания и накопления растворимых и нерастворимых малоразмерных соединений цинка. Обнаружена повышенная экскреция наноразмерных частиц.

Ключевые слова: наночастицы, малоразмерные формы, нерастворимые соединения цинка, сульфат цинка, оксид цинка, гидроксид цинка, ААС, крысы Wistar, распределение в тканях, внутрижелудочное ведение.

FEATURES OF ACCUMULATION AND DISTRIBUTION OF SMALLSIZED ZINC COMPOUNDS IN THE EXPERIMENT ON RATS

Larin S.L., Budko E.V., Khabarov A.A.

Kursk state medical university

Karl Marx St., 3, Kursk, 30504, Russia.

e-mail: sergeilarin.kursk@gmail.com

Abstract. We have carried out a comparative in vivo study of accumulation and distribution of smallsized zinc compounds: Zn(OH)₂ (the size of particles – 2-3 nm, further - ZN-NP), ZnO (the size of particles – 1,0-0,9 μm, further - ZN-MP) received by the modified condensation method. The experiment was carried out in four groups of Wistar rats, the content of Zn²⁺ was determined by the method of atomic absorption spectrometry (AAS) after intragastric injection once a day during 7 days. The comparable level of absorption and accumulation of soluble and insoluble small zinc compounds has been detected. The increased excretion of nanoparticles has been detected.

Keywords: nanoparticles, small-size forms, insoluble zinc compounds, zinc sulfate, zinc oxide, zinc hydroxide, AAS, Wistar rats, tissue distribution, intragastric injection.

Введение. Одной из важнейших задач современной клинической фармакологии является изучение распределения и метаболизма потенциальных биологически активных средств в эксперименте. Масштабное развитие технологий получения малоразмерных соединений обуславливает применение последних в качестве веществ, обладающих измененной биологической активностью. Известно, что активность и биологический отклик напрямую зависят от морфологии и размера введенного соединения.

Особый интерес представляют различные микронутриенты и соединения, потенциально способные корректировать их дефицитные соединения. Важную роль в поддержании нормального уровня жизнедеятельности организма играет цинк, что обусловлено обширным набором белков и энзимов, содержащих Zn²⁺ в своем составе и, как следствие, многочисленностью цинкзависимых процессов: репарация, синтез белковых структур, обеспечение нормального функционирования ЦНС и др.

Биологическая активность наночастиц оксида цинка достаточно широко отражена в литературе. Так, в работе [1] для частиц 89.3 нм после внутрижелудочного введения крысам, отмечен высокий дозозависимый уровень абсорбции с отсутствием токсических эффектов. Авторы [2] сообщают о значительном накоплении Zn²⁺ в плазме и тканях при однократном пероральном введении крысам наноразмерного (20 и 70 нм) ZnO. Достоверные данные о биологическом отклике наноразмерного гидроксида цинка отсутствуют.

Целью данной работы являлось изучение всасывания, накопления и распределения малоразмерных нерастворимых соединений цинка (оксида и гидроксида) в сравнении с традиционной растворимой формой цинка сульфатом.

Материалы и методы. Наночастицы гидроксида цинка (ZN-НЧ) были получены модифицированным конденсационным методом в среде абсолютного этанола, последующий отжиг при 600 °С позволил получить микрочастицы оксида цинка (ZN-МЧ). Методика приведена в работе [3]. В качестве соединения сравнения использовался ZnSO₄ (ГОСТ 4174-77, ч.д.а.) по причине его широкого использования в медицине, в частности для коррекции дефицита цинка.

В качестве тест-организмов использовали инбредных белых крыс-самцов линии Wistar в возрасте 12 недель, имеющих массу тела 135±12 г. Операции и все манипуляции с животными проводились с использованием общего обезболивания с учетом положений, регламентируемых приложением № 8 («Правила гуманного обращения с лабораторными животными»), «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». За 14 дней до эксперимента и в процессе его, крысы получали стандартный рацион вивария, сбалансированный по содержанию питательных веществ, в том числе и микроэлементов. Исследуемые соединения дозировались внутрижелудочно при помощи зонда из расчета 14 мг Zn²⁺ на животное, что является минимальной дозой, оказывающей терапевтический эффект. Животные умерщвлялись под эфирным наркозом.

Образцы тканей и органов подвергались предварительной пробоподготовке методом «мокрого» озоления в смеси хлорной кислоты и 30% перекиси водорода [4]. Определение количества цинка в образцах проводилось методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрометре СПЕКТР-5-4 (ОАО «Союзцветметавтоматика», включен в Государственный реестр средств измерений № 13743-04).

Результаты и их обсуждение. Образцы исследуемых соединений перед экспериментом были охарактеризованы: ZN-НЧ исследованы методом малоуглового рентгеновского рассеяния (бипирамидальная сингония, максимум распределения вблизи 2-3 нм), ZN-МЧ исследованы методом сканирующей электронной микроскопии (гексагональная сингония, размер 0.9-1.0 мкм) [3]. Для каждого из исследуемых соединений были рассчитаны массы навесок эквивалентные 14 мг Zn²⁺ в пересчете на одно животное. Перед введением готовилась суспензия в деионизированной воде. Крысы получали исследуемые вещества один раз в день, по схеме 4 – 24 – 48 – 72 – 120 – 168 ч. Спустя 4 часа после внутрижелудочного введения часть крыс из каждой группы умерщвлялась и проводилось определение содержания цинка в эритроцитарной массе, плазме крови, печени, семенниках, бедренной кости. Для оценки степени экскреции производилось определение содержания цинка в кале.

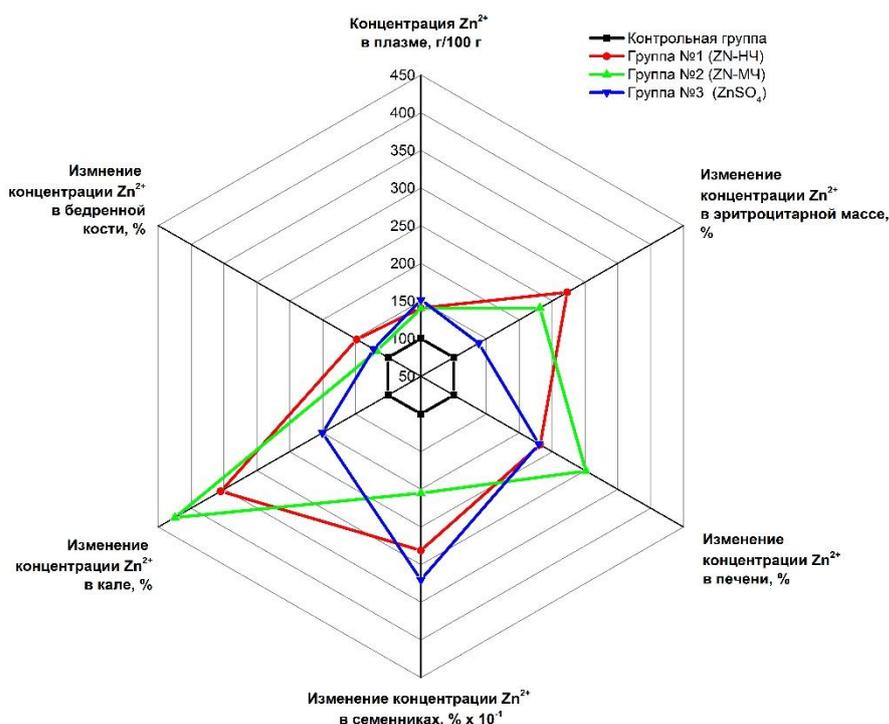


Рисунок 1 – Изменения количества ионов цинка в основных органах-мишенях после 168 часов эксперимента: для контрольной группы (1), для группы, получавшей ZN-HЧ (2), для группы, получавшей ZN-MЧ (3), для группы, получавшей ZnSO₄ (4)

На рисунке 1 представлены изменения количества Zn²⁺ в основных органах-мишенях в результате 168-часового эксперимента.

Как видно из рисунка 1 цинк из всех соединений достигает органов-мишеней и склонен к стабильному накоплению в тканях. Соединения ZN-HЧ (группа 1) и ZN-MЧ (группа 2) по накоплению в плазме крови показали близкие результаты, сопоставимые с результатом сульфата цинка. Для эритроцитарной массы, напротив, более высокий уровень накопления цинка наблюдается при введении животным ZN-HЧ и ZN-MЧ. Суммарный уровень содержания цинка в крови (эритроцитарная масса + плазма) крыс контрольной группы нашего эксперимента снижен по сравнению с данными [5] (1.28 мкг/мл в сравнении с 8.89 мкг/мл). Низкое содержание исследуемого микроэлемента в крови может быть обусловлено молодым возрастом крыс по ряду причин. Во-первых, снижение всасываемости Zn²⁺ при переходе питания молодых крыс от молока к твердой пище, недостаточность адаптации пищеварительной системы к употреблению рациона вивария. Второй причиной может служить активный рост животного, его тканей и органов, что проявляется в кажущемся уменьшении концентрации эссенциальных микроэлементов, которые на самом деле активно перераспределяются между тканями и органами, требующими больших концентраций витальных ионов [5]. Описан специфический механизм транслокации, проявляющийся на раннем этапе развития молодых крыс, когда Zn²⁺ переносится из печени в другие органы-мишени (например, мозжечок [5]), вызывающий снижение содержания цинка не только в печени, но и в крови.

Каждое из трех исследуемых нами соединений вызывает стабильное накопление цинка в печени, причем наибольший уровень отмечен для ZN-MЧ. В свою очередь наноразмерный ZN-HЧ и сульфат цинка приводят к возрастанию концентрации в тканях печени в 2-3 раза, что может оказывать токсический эффект. Однако следует отметить, что признаков токсических проявлений у крыс не обнаружено.

Содержание цинка в бедренной кости также увеличилось в ходе эксперимента в 1.5-2 раза, наибольший уровень отмечен в группе 2 (ZN-MЧ). Группа 1 (ZN-HЧ) и 3 (сульфат цинка) показали сопоставимый уровень цинка. Накопление в костной ткани отмечается только на 72-ой час после введения крысам исследуемого малоразмерного соединения цинка.

Повышенное введение цинк-содержащих соединений вызвало значительное накопление Zn²⁺ в ткани семенников, сопровождающееся также и увеличением массы органа. Наибольший прирост выявлен в группах 1 (ZN-HЧ) и 3 (сульфат цинка). Количество цинка в контрольной группе и исходные уровни экспериментальных групп позволяют говорить о слабом дефиците микроэлемента в семенниках крыс (13.1 мкг/100 г) по сравнению с работами других авторов (24 мкг/100 г [6], 27.7 мкг/100 г [7]). В нашем эксперименте прием соединений цинка позволил не только восстановить нормальное значение элемента, но превысить норму в 10-14 раз.

Для индикации процесса экскреции введенного препарата цинка из организма лабораторного животного, были определены концентрации Zn^{2+} в каловых массах. Кажущаяся доля цинка, выводящегося таким путем, достигает 21 % от введенной дозы (14 мг Zn^{2+}).

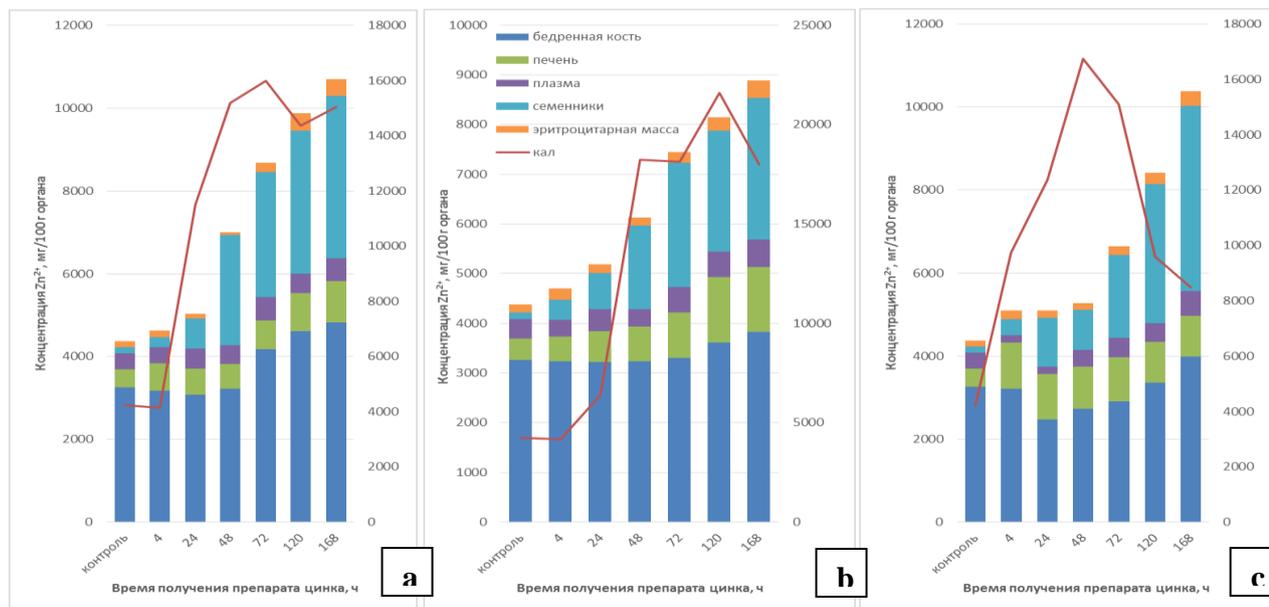


Рисунок 2 – Уровни распределения введенной дозы цинка в основных органах-мишенях в сравнении с контрольной группой: **а.** 1 группа (ZN-НЧ); **б.** 2 группа (ZN-МЧ); **с.** 3 группа (сульфат цинка), – в ходе 168-часового эксперимента

Выводы. Известно, что биологический отклик препарата, содержащего в себе наноразмерные соединения, напрямую зависит от их физико-химических характеристик: размера, морфологии поверхности, присутствия посторонних включений. Некоторые авторы [8, 9] сообщают также и о специфическом видовом воздействии наночастиц на органы-мишени. В данной работе проведено изучение накопления, распределения в органах-мишенях, а также особенности экскреции различных по размеру и форме малоразмерных соединений цинка: ZnO (размер – 1.0-0.9 мкм, гексагональная сингония), $Zn(OH)_2$ (размер – 2-3 нм, октаэдрическая форма) в сравнении с образцом раствора сульфата цинка.

По данным предварительного исследования *in vivo* нерастворимых малоразмерных соединений цинка обнаружена сопоставимая по уровню с растворимыми солями способность к биоабсорбции из ЖКТ. Выявлено, что исследованные соединения Zn , имеют различную способность к накоплению в исследованных образцах потенциальных органах мишенях: наноразмерный гидроксид цинка имел тенденцию к накоплению в эритроцитарной массе крови, а микроразмерный оксид цинка в тканях печени. Кроме того, для обоих соединений обнаружен сопоставимый с растворимым соединением $ZnSO_4$ дозозависимый уровень биоабсорбции. Определено, что из выбранных для исследования органов, потенциальными пулами цинка являются семенники и печень; отмечается также и стабильное накопление уровня Zn^{2+} в бедренных костях начиная с 72 часов. Подобные данные, согласуются с исследованиями других авторов [2, 10], которые, однако, не обнаружили значимого накопления Zn^{2+} в семенниках крыс, при введении последним наноразмерных соединений цинка. Уровень экскреции для малоразмерных частиц оказался немного выше, чем при приеме растворимой формы.

Авторами [8, 10] описаны токсические процессы, возникающие в некоторых органах (например, печени) при введении крысам малых доз (50-300 мг/кг) наноразмерного (20-30 нм) препарата цинка. В нашем эксперименте при испытании дозы 100 мг/кг в течение 7 дней не обнаружено никаких токсических эффектов, также не зарегистрировано патоморфологических изменений в структуре семенников.

Оксид и гидроксид цинка обладают прогнозируемым биологическим откликом и селективной способностью к накоплению в органах-мишенях, что свидетельствует об их активности. Выявленная особенность может быть использована для разработки средства, совмещающего в себе свойства системы доставки, для купирования гипоцинкозов в выбранных органах.

Список литературы / References:

1. Cho W.-S., Kang B.-C., Lee J.K. [et al.] Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration. *Particle and fibre toxicology*, 2013, vol. 10, no. 9, pp. 1-9.

2. Baek M., Chung H.-E., Yu J., Kim T.-H. [et al.] Pharmacokinetics, tissue distribution, and excretion of zinc oxide nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 2012, vol. 7, pp. 3081-3097.
3. Будко Е.В., Хабаров А.А., Ларин С.Л. Синтез и характеристика малоразмерных соединений для коррекции гипозинкозов. *Перспективные материалы*, 2016, no. 3, с. 20-26. [Budko E.V., Khabarov A.A., Larin S.L. Synthesis and characterization of small-sized zinc compounds for hypozincoses correction. *Journal of Advanced Materials.*, 2016, no. 3, pp. 20-26. (In Russ.)]
4. Будко Е.В., Ямпольский Л.М., Ларин С.Л. [и др.] Особенности пробоподготовки крови методом «мокрого озоления». *Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Современная наука: теоретический и практический взгляд»*, Уфа, 2014, с. 9-13. [Budko E.V., Yampolskii L.M., Larin S.L. [et al.] Features of the blood sample preparation by the method of "wet ashing". *Proceedings of international Science-Practical Conference «Sovremennaja nauka: teoreticheskij i prakticheskij vzgljad»*, Ufa, 2014, pp. 9-13. (In Russ.)]
5. Thomas D.J., Mushak P. Effects of cadmium exposure on zinc and copper distribution in neonatal rats. *Arch. Toxicol.*, 1986, vol. 58, pp. 130-135.
6. Ozen O.A., Yaman M., Sarsilmaz M. [et al.] Testicular zinc, copper and iron concentrations in male rats exposed to subacute and subchronic formaldehyde gas inhalation. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2002, vol. 16, pp. 119-122.
7. Rahman A.S., Kimura M., Itokawa Y. Testicular atrophy, zinc concentration and angiotensin-converting enzyme activity in the testes of vitamin A-deficient rats. *Biological Trace Element Research*, 1999, vol. 67, pp. 29-36.
8. Mansouri E., Khorsandi L., Orazizadeh M. [et al.] Dose-dependent hepatotoxicity of zinc oxide nanoparticles. *J. Nanomedicine*, 2015, vol. 2, pp. 273-282.
9. Song L., Connolly M., Fernandez-Cruz M.L. [et al.] Species-specific toxicity of copper nanoparticles among mammalian and piscine cell lines. *Nanotoxicology*, 2014, vol. 8, pp. 383-393.
10. Choi J., Kim H., Kim P. [et al.] Toxicity of zinc oxide nanoparticles in rats treated by two different routes: single intravenous injection and single oral administration. *Journal of toxicology and environmental health, part A: Current Issues*, 2015, vol. 78, pp. 226-243.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВОДНЫХ ДВУХФАЗНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ-6000 И СОЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ

Масимов Э.А., Багиров Т.О., Оджавердиева С.Я., Искендерова К.А., Шахвердиев Я.Х.

Бакинский государственный университет
ул. Захида Халилова, 23, г. Баку, AZ 1148, Азербайджан
e-mail: rsfmo@rambler.ru

Аннотация. Изучены фазовые диаграммы водных двухфазных систем ПЭГ-6000-органическая соль, где в качестве соли взяты натриевые соли лимонной и янтарной кислот, а также оптически активные D-(+)-виннокислый натрий и D-(+)-виннокислый калий натрий (тарtratoы). По высаливающей способности эти соли располагаются в ряд: сукцинат натрия < тартрат натрия ≤ тартрат калия натрия < цитрат натрия. Методами волюмометрии и рефрактометрии в сравнительно широком интервале концентраций изучены водные растворы указанных солей. Определены парциальные мольные объемы их в водных растворах. Получены уравнения зависимости парциальных мольных объемов солей от их концентрации в растворе. Показано, что по величине парциальных мольных объемов эти соли располагаются в ряд: сукцинат натрия < тартрат калия натрия < цитрат натрия, что находится в согласии с их высаливающей способностью. Изучено влияние карбамида, глюкозы и сахарозы на фазовые диаграммы водных двухфазных систем ПЭГ-6000-цитрат натрия и ПЭГ-6000-сукцинат натрия.

Ключевые слова: водные двухфазные системы, парциальный мольный объем, бинодаль.

RESEARCH OF SOME AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEMS BASED ON POLYETHYLENE GLYCOL-6000 AND CERTAIN ORGANIC ACID SALTS

Masimov E.A., Bagirov T.O., Ojagverdiyeva S.Y., Iskenderova K.A., Shahverdiyev Y.Kh.

Baku State University
Zahid Khalilov Str., 23, AZ 1148, Baku, Azerbaijan
e-mail: rsfmo@rambler.ru

Abstract. The phase diagrams of aqueous two-phase systems of PEG-6000-organic salt, where are taken as salt sodium salts of citric and succinic acids, as well as optically active D-(+)-sodium tartrate and D-(+)-potassium sodium tartrate have been studied. By desalting capacity of these salts are in sequence: sodium succinate < sodium tartrate ≤ potassium sodium tartrate < sodium citrate. By the methods of refractometry and volumetry in a relatively wide concentration range of aqueous solutions of said salts have been studied. Their partial molar volumes in aqueous solutions have been determined. The equations of depending of the partial molar volumes of salt on their concentration in the solution have been obtained. It was shown that on the size of partial molar volumes these salts are placed in a row: sodium succinate < sodium tartrate ≤ sodium potassium tartrate < sodium citrate, which is in agreement with their desalting ability. The effect of urea, glucose and sucrose on the phase diagrams of aqueous two-phase system of PEG 6000-sodium citrate and PEG 6000-sodium succinate have been studied.

Key words: aqueous two-phase systems, partial molar volume, binodal.