

Вплив різних доз цитратів наночастинок йоду, селену, сірки на активність гіпофіз-тиреоїдної системи і обмін речовин у щурів

І.І. Ковальчук^{1,3}, У.І. Тесарівська², Р.С. Федорук¹, Р.Я. Іскра⁴, М.М. Цап¹, М.І. Храбко⁵, О.І. Колещук³, І.М. Петрух¹

¹Інститут біології тварин НААН, Львів;

²Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, Львів;

³Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені Степана Гжицького;

⁴Львівський національний університет імені Івана Франка;

⁵ВПНЗ Львівський медичний університет; e-mail: tm_tsap@meta.ua

Застосування органічних сполук йоду, селену, сірки обмежене через складність їх хімічного синтезу. Розроблені новітні нанотехнологічні методи одержання органічних сполук I, Se, S дають можливість заміни їх мінеральних і органічних солей на цитратні суміші, синтезовані на основі нанотехнології. Це дає перспективу використання наноконпозиції цитратів I, Se, S у біології, медицині та тваринництві. Метою досліджень було з'ясувати вплив різних доз цитратів наночастинок I, Se, S на активність гіпофіз-тиреоїдної системи і обмін речовин у крові самців щурів. Тварини дослідних груп отримували щоденно з водою суміш I, Se, S в експериментально визначених за масою елементів співвідношеннях (3:1:5) та дозах за концентрацією йоду в мікрограмах на 1 кг маси тіла: 1-ша група – 2,4 (низька); 2-га група – 24 (середня); 3-тя група – 240 (висока); 4-та група – 2400 (токсична). Кров для лабораторних досліджень відбирали на 40-ву добу випоювання I, Se, S після декапітації тварин. У крові визначали вміст тиреотропного гормону (ТТГ), трийодтироніну (Т₃), тироксину (Т₄), тиреоглобуліну (ТГ), антитіл до тиреоглобуліну (АТТГ) та тиреопероксидази (АТПО), а також гематологічні та біохімічні показники, що характеризують активність фізіологічних систем організму. Встановлено активацію імунної системи організму з підвищенням числа моноцитів у крові щурів дослідних груп за дії всіх застосованих доз I, Se, S, а тромбоцитів – лише в дозах 2,4; 24 і 240 мкг йоду. Вплив токсичної дози зумовлював підвищення кількості лейкоцитів у крові тварин зі зниженням тромбоцитів. Зміни лейкограми крові характеризувалися зменшенням відносного числа лімфоцитів і підвищенням моноцитів у крові щурів дослідних груп. Застосовані дози стимулювали синтез холестерину і надходження кальцію в периферичну кров щурів, але інгібували активність лужної фосфатази та вміст креатиніну. Токсична дія цитратів у дозі 2400 мкг йоду зумовлювала суттєве зростання активності амінотрансфераз і зниження лужної фосфатази, вмісту фосфору та маси тіла щурів. Таким чином, вплив високої і токсичної доз цитратів наночастинок I, Se, S на функціонування гіпофіз-тиреоїдної системи спричиняв зниження концентрації ТТГ, Т₃, Т₄ і ТГ на тлі підвищення АТТГ та АТПО в сироватці крові щурів дослідних груп.

Ключові слова: щури, кров; обмін речовин; тиреоїдні гормони; наночастинки; цитрати; йод; селен; сірка.

ВСТУП

Функціонування окремих фізіологічних систем та всього організму людини і тварин значною мірою визначається рівнем надходженням макро- і мікроелементів [1, 2].

© Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 2023

© Видавець ВД “Академперіодика” НАН України, 2023

Доведено, що йод, селен, сірка (I, Se, S) відіграють важливу регуляторну роль у діяльності гіпофіз-тиреоїдної системи в організмі ссавців [2–4]. Функціональна активність щитоподібної залози (ЩЗ) залежить від

забезпечення організму I і Se. Вони беруть участь у регуляції росту і розвитку ЩЗ та всього організму [4, 5], формуванні його репродуктивної функції та резистентності [6–8]. I^- і Se^{2+} впливають на формування і функціонування імунної системи [6], активність T- і B-лімфоцитів, макрофагів [7].

Значні коливання надходження йоду в організм можуть викликати порушення функції ЩЗ з розвитком гіпотиреозу або гіпертиреозу [4, 8]. У разі фізіологічного вмісту йоду у тканинах ЩЗ людини він сягає 12–15 мкг, у дорослих щурів 12–18 мкг [2, 4]. Для синтезу тиреоїдних гормонів за добу організм щура використовує 1,4 мкг йоду. У людини за фізіологічних умов за добу поглинається 60 мкг йоду, а недостатнє його надходження знижує це значення до 20 мкг. Характерно, що як дефіцит, так і надлишок йоду в організмі посилює мітотичну активність тиреоцитів ЩЗ [2, 8]. Надлишок I порушує гомеостаз Se, що зумовлює розлади дейодування тироксину в різних типах клітин. Внутрішньоклітинний вміст Se може використовуватися для синтезу й інших селенопротеїнів, функції яких нині недостатньо з'ясовані [9, 10]. Активно досліджуються Se-протеїн P 15, що контролює процес фолдингу глікопротеїнів і може посилювати чи уповільнювати розвиток пухлин у ЩЗ [2, 7]. Селен-протеїн W – тіоредоксинподібний білок, що бере участь у адаптивній відповіді на оксидативний стрес [9, 11]. У разі нестачі селену зростає апоптотична відповідь клітин на дію H_2O_2 [2, 11]. Фізіологічні концентрації селену підтримують активність глутатіонпероксидази і тіоредоксинредуктази та захист тиреоцитів від дії пероксидів. Утворення H_2O_2 є лімітуючою стадією в синтезі гормонів ЩЗ і регулюється цей процес тиреотропіном [12, 13].

У синтезі гормонів ЩЗ та гіпофіза також беруть участь сполуки сірки, яка може утворювати через ковалентний зв'язок катіонів S-I і S-Se, теоретично обґрунтовані складні комплекси – дейодосульфани і

дейодоселенани [14–17]. Припускають, що сульфатація тирозину може відігравати вирішальну роль у гормоногенезі гіпофіз-тиреоїдної системи, проте значення сульфатної групи у цьому процесі повністю ще не з'ясоване [15, 16]. Зокрема, це лантіоніни (лантіонін, цистатіонін, тіалізін, гомолантіонін), а також циклічні кетиміни, що виявляють сильну антиоксидантну, нейропротекторну та нейротрофічну дію. Однак надлишок надходження S в організм може інгібувати синтез тиреоїдних гормонів [3, 17].

Разом з тим доведено, що хімічна форма макро- і мікроелементів суттєво впливає на їх засвоєння та фізіологічну активність в організмі [18–20]. Це зумовлено як властивостями самих біоелементів, так і їх здатністю формувати ліганди та включатися у процеси обміну речовин у вигляді комплексів [18–22]. Нанотехнологічні цитрати (НТЦ) біотичних елементів мають негативний заряд і швидко всмоктуються у кишечнику, проникаючи через мембранні стінки [19, 21]. Однак на відміну від цитратних комплексів хімічного синтезу, вони містять надлишок лимонної кислоти, що підвищує їхню біологічну доступність і здатність до комплексоутворення. НТЦ макро- і мікроелементів є істинними хелатними комплексами середньої стійкості з лимонною кислотою. Такі сполуки менш токсичні, безпечніші, мають високу фізіологічну активність і хімічну чистоту. Відзначається, що цитрати наночастинок біоелементів є перспективними для широкого застосування в біології, медицині, тваринництві, харчовій промисловості [18, 19, 22, 23]. Ведуться наукові пошуки фізіологічно ефективних поєднань та концентрацій цитратів наночастинок біотичних елементів [19, 21–23]. Однак механізми фізіологічної активності комплексної дії цих сполук не досліджені.

Метою нашого дослідження було з'ясувати вплив різних доз цитратів наночастинок I, Se, S на активність гіпофіз-тиреоїдної системи і обмін речовин у крові самців щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження виконані на молодих самцях білих лабораторних щурів масою 250–260 г, поділених на контрольну і 4 дослідні групи, по 6 тварин у кожній. Самців контрольної та дослідних груп утримували у сертифікованому за чинними санітарно-ветеринарними вимогами віварії Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок на раціоні з гранульованого комбікорму з вільним доступом до питної води. Тваринам дослідних груп додавали суміш цитратів наночастинок I, Se, S цитратів, отриманих методом нанотехнології [24]. Метод базується на електроімпульсному диспергуванні гранул або кристалів елемента в деіонізованій воді з утворенням наночастинок різних розмірів – від 1 до 100 нм. Проте всі вони формуються у хелатний комплекс з лимонною кислотою на наступному етапі одержання цитратів мінеральних елементів. Спочатку хелатування відбувається за рахунок водневих зв'язків дипольних молекул води з негативно зарядженою наночастиною і формуванням гідратної оболонки. Далі у водний розчин, що містить гідратовані наночастинок, додають лимонну кислоту ($C_6H_8O_7$), яка у водному розчині дисоціює, утворюючи іони водню (H^+) та іони цитрату ($C_6H_5O_7^-$). Негативно заряджені наночастинок притягують до себе утворені позитивно заряджені іони водню, які, в свою чергу, притягують іони цитрату, що призводить до відновлення дисоційованих молекул лимонної кислоти на поверхневих зонах наночастинок. У результаті навколо наночастинок формується нанооболонка з молекул лимонної кислоти. Таким чином, додавання лимонної кислоти до колоїдного розчину забезпечує одержання стійкого карбоксилатно-хелатного комплексу у вигляді НТЦ, що не містить вільних наночастинок.

Застосування цитратів наночастинок I, Se, S у дослідних групах проводили за концентрацією йоду в розчині – 2,4 мкг

(1-ша група), 24 мкг (2-га група), 240 мкг (3-тя група) і 2400 (4-та група) мкг йоду/кг маси тіла з врахуванням розрахункового добового споживання води. Вміст йоду, селену і сірки у водному розчині НТЦ визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з використанням індуктивнозв'язаної плазми (ДСТУ ISO 11885:2005. Якість води. Визначення 33 елементів методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою). Робочі розчини цитратів отримували від ТОВ «Наноматеріали та нанотехнології» (Київ), які готували з урахуванням встановлених концентрацій I – 210, Se – 70, S – 350 мг/л та експериментально визначених у попередніх дослідженнях і співвідношеннях маси цих елементів як 3:1:5. За основу дозування НТЦ, а також для покращення аналізу результатів дослідження використовували концентрацію йоду в робочому розчині після відповідних розведень. Випоювання цитратів наночастинок I, Se, S проводили групово з щоденною кількістю води впродовж 40 діб з визначенням індивідуальних показників маси тіла тварини за кожні 24 год і їх 10-добової динаміки стосовно підготовчого періоду та контрольної групи.

На 40-ву добу застосування цитратів щурів декапітували після знерухомлення в лабораторному ексікаторі, наповненому CO_2 , з дотриманням біоетичних вимог поводження з тваринами (Європейська конвенція щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях. Страсбург, 1986). У крові тварин визначали число лейкоцитів, лімфоцитів, моноцитів, гранулоцитів, еритроцити, тромбоцитів, гемоглобіну, гематокрит на гематологічному аналізаторі Mythic 18 Vet (Швейцарія). У сироватці крові визначали вміст альбуміну, креатиніну, сечовини, триацилгліцеролів, холестерину, загального кальцію, неорганічного фосфору, активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази. Дослідження

цих показників проводили на біохімічному аналізаторі «Humalizer-2000» (Німеччина) з використанням рекомендованих його розробником наборів реактивів для приладу. У сироватці крові щурів контрольної, 3-ї та 4-ї груп визначали вміст тироксину (T_4), трийодтироніну (T_3), тиреоглобуліну (ТГ), тиреотропного гормону гіпофізу (ТТГ), антитіл до тиреоглобуліну (АТТГ), антитіл до тиреопероксидази (АТПО) імуноферментним методом на аналізаторі STAT. FAX-3000 (РФ). Використовували набори “Тиреоид ИФА-Т”.

Отримані результати опрацьовували статистично за програмою «One-way ANOVA» з визначенням середніх величин (M), їх відхилень ($\pm m$) і вірогідності різниць досліджених показників між контрольною та дослідними групами. Вірогідними різницями вважали величини, що становили $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз гематологічних показників вказує на фізіологічно виражений вплив цитратів наночастинок I, Se, S у застосованих концентраціях і співвідношеннях на кількість лейкоцитів, окремих їх форм та тромбоцитів (табл. 1). Характерно, що найвища доза I, Se, S зумовлювала вірогідне підвищення кількості лейкоцитів ($P < 0,05$), моноцитів ($P < 0,01$) і гранулоцитів ($P < 0,01$) у крові щурів 4-ї групи. Очевидно, токсична доза посилювала імунобіологічну реактивність організму щурів зі змінами гематологічних показників, що характеризують реакцію неспецифічної імунної відповіді. Аналогічні

зміни в крові щурів відзначали й інші автори [25] у дослідженнях дії високих доз органічних комплексів йоду. Зокрема, оральне застосування у щурів і собак високих доз комплексів йоду у вигляді йод-повідону та кадекомерів – антисептичних сполук, що регулюються вуглеводами і поліпептидами, зумовлювало індукцію запальної відповіді з розвитком тиреотоксикозу. Відзначено зміни гематологічних і біохімічних показників крові у тварин за дії як максимально високої (2000 мг/кг), так і меншої (1000 мг/кг) доз йодовмісних препаратів. Максимально висока доза цитратів призводила до зниження інтенсивності росту щурів з ураженням гістологічної структури ЩЗ та ячок.

За умов дії цитратів наночастинок I, Se, S число моноцитів зростало у крові щурів усіх дослідних груп, а тромбоцитів тільки 1, 2 і 3-ї груп порівняно з контролем. Це вказує на активацію імунної реакції і захисних систем всього організму та можливу вторинну імунну відповідь на подразнюючу дію цих сполук у разі тривалого застосування. У дослідженнях інших авторів [26, 27] відзначено, що реактивність неспецифічної імунної відповіді характеризується активацією функції нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів з виробленням високого вмісту цитокінів, які можуть запускати вторинну імунну відповідь. Висока функціональна активність нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів свідчить про розвиток прозапальної реакції. Як найбільші клітини крові, моноцити здатні продукувати інтерлейкіни, інтерферони, брати участь у гемопоезі [2, 22]. Після їх

Таблиця 1. Гематологічні показники щурів за дії різних концентрацій цитратів I, Se, S ($M \pm m$, $n = 6$)

Доза йоду, мкг/кг	Лейкоцити, 10^9 /л	Лімфоцити, 10^9 /л	Моноцити, 10^9 /л	Гранулоцити, 10^9 /л	Еритроцити, 10^{12} /л	Тромбоцити, 10^9 /л	Гемоглобін, г/л	Гематокрит, л/л
0	$6,4 \pm 0,39$	$4,8 \pm 0,50$	$0,59 \pm 0,05$	$1,10 \pm 0,17$	$6,7 \pm 0,36$	$456,0 \pm 10,3$	$156,7 \pm 1,11$	$0,354 \pm 0,02$
2,4	$6,2 \pm 0,70$	$4,3 \pm 0,47$	$0,75 \pm 0,08$	$1,15 \pm 0,19$	$7,6 \pm 0,22$	$565,8 \pm 33,9^*$	$161,8 \pm 3,00$	$0,388 \pm 0,007$
24	$7,1 \pm 0,36$	$4,5 \pm 0,37$	$0,92 \pm 0,06^{**}$	$1,73 \pm 0,12$	$7,1 \pm 0,25$	$514,8 \pm 9,1^{***}$	$152,7 \pm 5,53$	$0,377 \pm 0,013$
240	$5,8 \pm 0,38$	$3,7 \pm 0,24$	$0,85 \pm 0,03^{**}$	$1,26 \pm 0,20$	$7,1 \pm 0,10$	$660,8 \pm 21,7^{***}$	$154,2 \pm 2,43$	$0,373 \pm 0,005$
2400	$8,3 \pm 0,46^*$	$5,1 \pm 0,66$	$0,92 \pm 0,07^{**}$	$2,30 \pm 0,21^{**}$	$7,5 \pm 0,40$	$390,6 \pm 20,9^*$	$155,1 \pm 4,92$	$0,373 \pm 0,01$

Примітка: тут і в табл. 2 і 3 * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ щодо контролю.

дозрівання та диференціації у позасудинних тканинах кількість цих макрофагів значно зростає. Відзначено менше виражений вплив цитратів наночастинок I, Se, S на кількість лімфоцитів і гранулоцитів у крові щурів 1, 2 і 3-ї груп. Токсична доза цитратів у щурів 4-ї групи зумовлювала підвищення у 2,09 раза ($P < 0,01$) абсолютної кількості гранулоцитів, а невірогідно – і лімфоцитів.

Встановлено активуючий вплив низької, середньої та високої доз цитратів наночастинок I, Se, S на абсолютну кількість тромбоцитів – без'ядерних червоних клітин у крові щурів 1, 2 і 3-ї груп. Однак токсична доза в 2400 мкг йоду викликала вірогідне зменшення цих клітин у периферичній крові щурів 4-ї групи. Очевидно, токсична доза спричинювала гіперактивність імунної системи та інгібувальний вплив на функцію кісткового мозку щодо утворення тромбоцитів з мегакаріоцитів. Певний регуляторний вплив та надходження тромбоцитів у кров'яне русло і формування гемостазу, можливо, зумовлювався тромбоцитопоетинами.

Аналіз лейкограми вказує на нижчий відносний вміст лімфоцитів у крові щурів дослідних груп з вірогідною різницею у 2, 3 і 4-й групах порівняно з контролем (рис. 1). Однак відносна кількість моноцитів і гранулоцитів повторювала спрямованість змін абсолютних їх величин і вірогідно перевищувала число моноцитів у крові тварин 1, 2 і 3-ї груп, а гранулоцитів – лише 4-ї групи ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Підсумовуючи аналіз гематологічних показ-

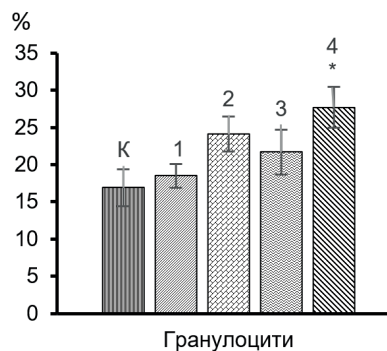
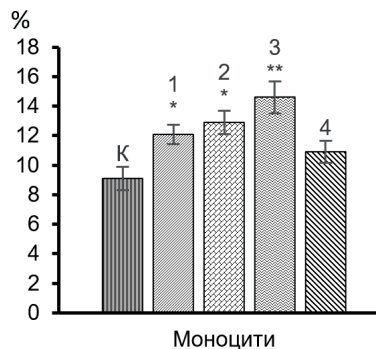
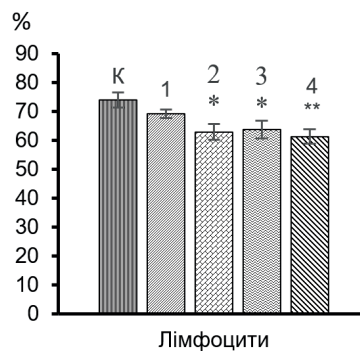


Рис. 1. Лейкограма крові щурів за дії різних концентрацій I, Se, S цитратів ($M \pm m$, $n = 6$). К – контроль; 1 – 2,4 мкг; 2 – 24 мкг; 3 – 240 мкг; 4 – 2400 мкг йоду/кг м. т. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ щодо контролю

Таблиця 2. Показники протеїнового обміну в сироватці крові щурів за дії різних концентрацій цитратів I, Se, S ($M \pm m$, $n = 6$)

Доза йоду, мкг/кг	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л	Аланінамінотрансфераза, нкат/л	Аспаратамінотрансфераза, нкат/л	Альбумін, г/л
0	64,2 ± 0,36	8,5 ± 0,39	47,4 ± 2,83	140,5 ± 9,95	29,1 ± 1,10
2,4	56,0 ± 2,19**	8,6 ± 0,30	38,8 ± 2,95	131,3 ± 16,15	30,2 ± 1,87
24	51,6 ± 1,21***	10,1 ± 0,60*	38,3 ± 3,48	116,9 ± 5,60	31,4 ± 1,11
240	56,5 ± 3,84	9,2 ± 0,42	46,4 ± 4,18	150,8 ± 21,36	30,8 ± 1,59
2400	60,3 ± 2,35	11,3 ± 0,35***	72,2 ± 14,37***	268,4 ± 23,25***	31,8 ± 3,81

ників, можна стверджувати про коригуючий вплив застосованих доз цитратів наночастинок I, Se, S після 40 діб їх випоювання на кількість моноцитів і тромбоцитів та співвідношення лімфоцитів і моноцитів у тварин всіх дослідних груп, а найвищої дози – лейкоцитів і гранулоцитів.

Досліджуючи біохімічні процеси у крові щурів було встановлено, що застосовані низька і середня дози цитратів наночастинок I, Se, S зумовлювали вірогідне зниження концентрації креатиніну. Вміст сечовини підвищувався при дії 24 ($P < 0,05$), 240 ($P > 0,05$) і 2400 ($P < 0,001$) мкг йоду (табл. 2). Крім того, активність аланін- та аспартатамінотрансфераз зростала ($P < 0,001$) лише у крові тварин 4-ї групи, які отримували найвищу дозу I, Se, S, що підтверджує її токсичну дію. Вірогідних змін концентрації альбуміну в сироватці крові щурів дослідних груп не встановлено, що свідчить про збереження його функцій, зокрема транспортної, на рівні контролю.

Аналіз показників ліпідного та мінерального обмінів вказує на підвищений вміст холестерину і кальцію в крові тварин за умов дії 24 і 240 мкг йоду і вірогідне зниження активності лужної фосфатази у щурів всіх дослідних груп (табл. 3).

Вміст фосфору неорганічного знижувався ($P < 0,001$) у крові щурів у разі дії найвищої дози і зберігався на близькому до контролю рівні в тварин інших дослідних груп. Очевидно, застосовані дози цитратів у 1, 2 і 3-й групах виявляли більше виражений

фізіологічний вплив на ліпідний і мінеральний обмін, що підтверджують зміни вмісту холестерину, кальцію, активності лужної фосфатази. Однак найвища доза цитратів наночастинок I, Se, S у 4-й групі зумовлювала токсичний вплив на організм і обмін протеїнів з високовірогідним зростанням вмісту сечовини та активності амінотрансфераз, а також зменшенням вмісту неорганічного фосфору у крові. Відмінності вмісту креатиніну, сечовини, холестерину, кальцію, фосфору та активності амінотрансфераз і лужної фосфатази можуть зумовлюватися як комплексною дією цитратів на обмін речовин у крові тварин дослідних груп, так і впливу кожного елемента, зокрема S на інтенсивність його перебігу [3, 15].

Помірно стимулюючий вплив низької, середньої та високої доз цитратів наночастинок I, Se, S на обмін речовин у щурів 1, 2, 3-ї груп, але токсичний – в 4-ї, за фізіологічними показниками, підтверджують і зміни їх маси тіла впродовж 40 діб дослідного періоду (рис. 2). Характерно, що вплив токсичної дози цитратів впродовж 30 діб зумовлював нижчу на 3–8% масу тіла щурів 4-ї групи, проте цей показник вірогідно зменшувався на 37,1% порівняно з контролем на 40-ву добу. Таке значне зниження маси тіла щурів цієї групи вказує на можливість кумулятивної дії цієї дози цитратів у період з 30 до 40-ї доби зі зміною хронічної токсичності на гостру. Однак у 1, 2 і 3-й групах маса тіла тварин була вищою в цей період на 5–9% порівняно з контролем, що свідчить про стимулюючий

Таблиця 3. Показники ліпідного та мінерального обміну в сироватці крові щурів за дії різних концентрацій цитратів I, Se, S ($M \pm m, n = 6$)

Доза йоду, мкг/кг	Триацил-гліцероли, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л	Лужна фосфатаза, нкат/л	Кальцій, ммоль/л	Фосфор неорганічний, ммоль/л
0	0,76 ± 0,05	1,23 ± 0,07	202,0 ± 8,3	1,78 ± 0,11	2,6 ± 0,13
2,4	0,91 ± 0,07	1,41 ± 0,14	137,1 ± 8,0***	2,02 ± 0,06	2,3 ± 0,08
24	0,96 ± 0,08	1,66 ± 0,10**	151,9 ± 15,3*	2,27 ± 0,06**	2,6 ± 0,11
240	0,73 ± 0,05	1,85 ± 0,20*	137,2 ± 7,0***	2,10 ± 0,07*	2,6 ± 0,25
2400	0,70 ± 0,14	1,50 ± 0,15	141,9 ± 21,1*	2,01 ± 0,07	1,7 ± 0,10***

вплив цитратів наночастинок I, Se, S у менших дозах на обмін речовин і ріст щурів цих груп.

Дослідження вмісту тиреоїдних гормонів та АТТГ і АТПО у сироватці крові щурів контрольної та 3-ї і 4-ї груп вказує на вірогідно виражений вплив цитратів наночастинок I, Se, S у концентрації 240 і 2400 мкг йоду на функціональну активність ЩЗ. Очевидно, коригуюча дія комплексу цитратів може зумовлюватися функціонуванням фізіологічного зв'язку у цих сполук із синтезом та надходженням у периферичну кров ТТГ, ТГ, вільних T_3 і T_4 . Зокрема, тривале застосування цитратів наночастинок I, Se, S зменшувало концентрацію ТТГ у крові за умов дії 240 мкг йоду ($P < 0,01$) і не вірогідно в дозі 2400 мкг (рис. 3, г). Однак вміст тиреоглобуліну був вірогідно нижчим у крові тварин обох дослідних груп (див. рис. 3, б), що може зумовлюватися комплексним інгібуючим впливом цитратів на синтез і секрецію цього основного йодовмісного тиреоїдного протеїну та концентрацію T_3 і T_4 (див. рис. 3, а, б, в). Нижчий вміст T_3 і T_4 у крові щурів дослідних груп порівняно з контролем не супроводжувався зростанням концентрації ТТГ. Це може спричинитися

комплексним регуляторним впливом високих доз цитратів наночастинок I, Se, S на активність тиреоїдно-гіпофізарної системи. Відомо, що в нейронах гіпоталамуса виробляється нейросекрет – тиреоїдний релізінг-гормон, який регулює виділення ТТГ гіпофізом у фізіологічному зв'язку з концентрацією T_3 і Ca^{2+} [2, 4]. Вказаний зв'язок може визначати тиреопероксидазну активність тиреоцитів, оскільки Ca^{2+} -залежна трансмембранна система бере участь в утворенні H_2O_2 для окиснення та органіфікації I. За фізіологічних умов надходження йоду, наявність H_2O_2 виступає лімітуючим чинником йодування ТГ. Однак за цих умов важливою є також роль ліпідів, селену і сірки, що відзначали інші дослідники [15, 17]. Застосування щурам КІ у дозі 3,5 мг/100 г упродовж 60 діб, що відповідала 500-кратній фізіологічній потребі, зумовлювало дисфункцію ЩЗ зі зниженням вмісту тиреоїдних гормонів та підвищенням показників ліпідного і вуглеводного обміну в крові [28].

Крім того, при накопиченні у ЩЗ тиреоїдних гормонів у період тривалої дії цитратів наночастинок I, Se, S можливий комплексний та роздільний, зокрема I і Se, вплив їх аутокринного ефекту з пригніченням синтезу

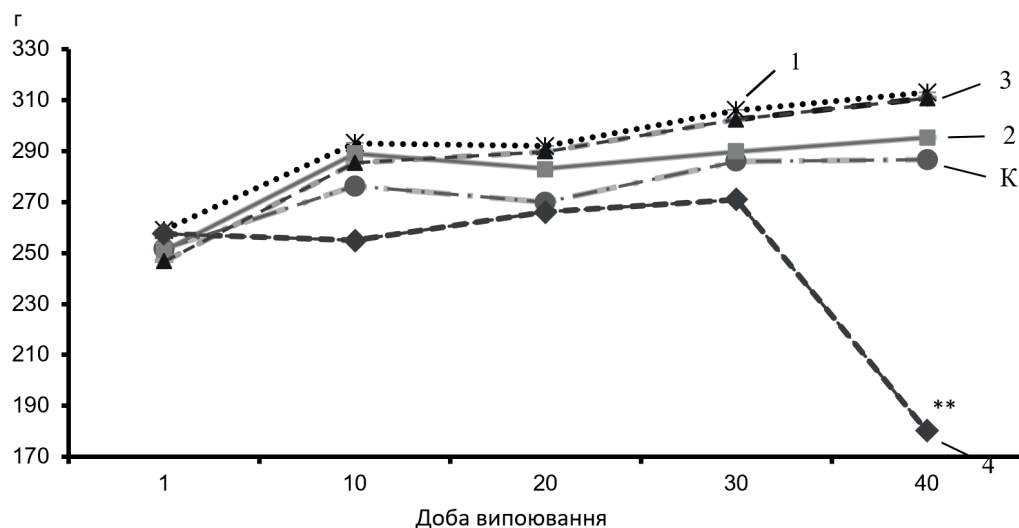


Рис. 2. Динаміка маси тіла щурів при випоюванні різних концентрацій I, Se, S цитратів ($n = 6$). К – контроль; 1 – 2,4 мкг; 2 – 24 мкг; 3 – 240 мкг; 4 – 2400 мкг йоду/кг. ** $P < 0,01$ щодо контролю

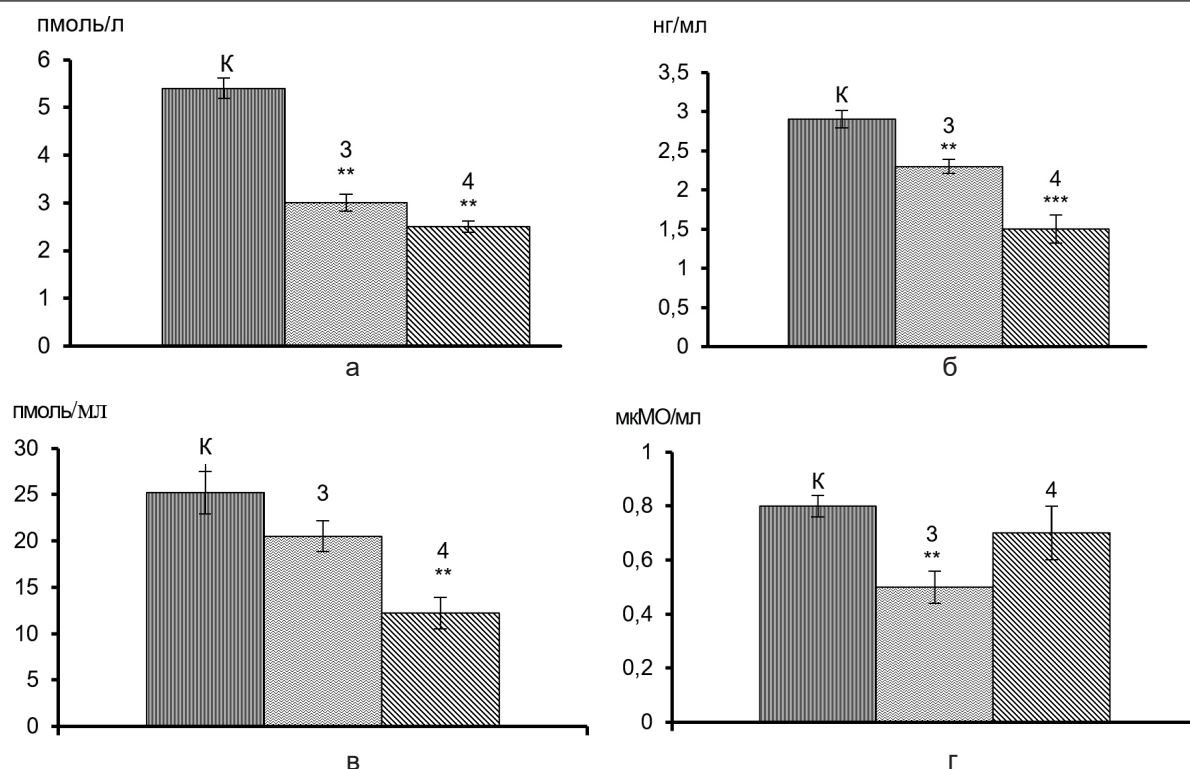


Рис. 3. Вміст тиреоїдних гормонів у сироватці крові щурів: а – трийодтиронін; б – тиреоглобулін; в – тироксин; г – тиреотропний гормон за дії різних концентрацій I, Se, S цитратів ($M \pm m$, $n = 6$). К – контроль; 3 – 240 мкг; 4 – 2400 мкг йоду/кг. ** $P < 0,01$ щодо контролю

і виведення T_4 у кров на тлі зростання аутоімунних процесів активності тиреоїдних ензимів – АТТГ та АТПО [2, 4]. У дослідженнях інших авторів встановлено значне зменшення вмісту АТПО, проте не відзначено змін вмісту АТТГ, концентрації ТТГ, гормонів ЩЗ у крові людей у разі дії 200 мкг селеніту натрію [2]. Механізм зменшення активності ТПО у крові при високих дозах селену може асоціюватися з їх впливом на запальні та імунні реакції, властивостями селено-протеїнів і обміном ліпідів. Встановлені зміни в крові є характерними для патогенезу серцево-судинних і ниркових захворювань [6, 11].

Фізіологічні ефекти Se в ЩЗ опосередковані протеїнами, що містять селеноцистеїн і вважаються найважливішими чинниками метаболічних процесів у цьому органі. Ці протеїни беруть участь у дейодуванні молекул ТГ, захищають клітини ЩЗ від апоптозу та оксидативного стресу. Процеси

йодування у ЩЗ властиві не лише для ТГ, але й для ліпідів з утворенням йодолактонів і йодоальдегідів. Ці сполуки здатні брати участь у регуляції обмінних процесів у ЩЗ та опосередковувати дію йоду на тиреоцити [2, 4]. Утворення йодолактонів може бути одним з шляхів метаболізму арахідонової та докозагексаєнової жирних кислот у тканинах тих органів, які містять йодидпероксидази [4, 13].

Регуляторне інгібування застосованими дозами цитратів наночастинок I, Se, S надходження у кров щурів ТТГ, T_3 і T_4 зумовлювало посилення її антипероксидазної та антитиреоглобулінової активності. Підтвердженням є вірогідно вища активність АТТГ й АТПО сироватки крові щурів за тривалої дії як 240, так і 2400 мкг йоду (рис. 4).

Більш висока активність АТПО та АТТГ на фоні зниження ЛФ у крові щурів дослідних груп свідчать про гіперстимулюючу дію

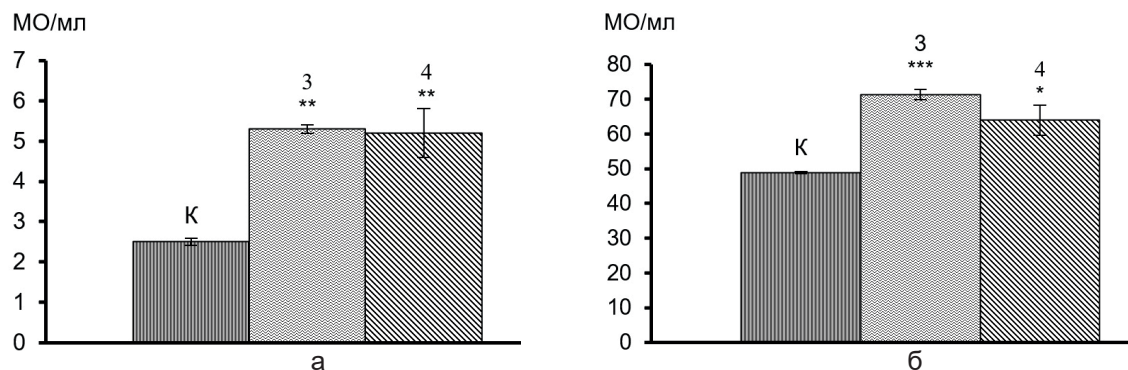


Рис. 4. Активність тиреоїдних ензимів у сироватці крові щурів: а – антитіла до тиреопероксидази; б – антитіла до тиреоглобуліну за дії різних концентрацій I, Se, S цитратів ($M \pm m$, $n = 6$). К – контроль; 3 – 240 мкг; 4 – 2400 мкг йоду/кг. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ щодо контролю

використаних доз цитрату наночастинок I, Se, S на синтез і активність ТПО в тиропцитах щитоподібної залози, реакцію імунної системи та надходження АТПО в периферичну кров [2, 18].

ВИСНОВКИ

Застосування самцям щурів з водою різних доз цитратів наночастинок I, Se, S впродовж 40 діб зумовлювало вірогідні зміни кількості лейкоцитів і тромбоцитів у крові, її лейкограми, показників протеїнового, ліпідного та мінерального обміну, вмісту тиреоїдних гормонів і антитіл до тиреопероксидази та тиреоглобуліну.

Низька, середня і висока дози цитратів наночастинок I, Se, S підвищували абсолютну та відносну кількість моноцитів і число тромбоцитів у крові щурів 1, 2, 3-ї груп. Дія найвищої дози характеризувалася зростанням числа лейкоцитів, абсолютної та відносної кількості моноцитів і гранулоцитів, вмісту сечовини й активності трансаміназ на тлі зменшення числа тромбоцитів та лімфоцитів у лейкограмі, активності лужної фосфатази, концентрації неорганічного фосфору та маси тіла тварин на 30–40-ву доби дослідного періоду на 37,1% порівняно з контрольною групою.

Вплив низької, середньої та високої доз цитратів наночастинок I, Se, S був більш вираженим на показники ліпідного і

мінерального обміну з підвищенням вмісту в крові тварин 1, 2, 3-ї груп холестерину і кальцію, але зниженням вмісту креатиніну та активності ЛФ.

Вплив високої і токсичної доз цитратів наночастинок I, Se, S на функціонування гіпофіз-тиреоїдної системи у щурів характеризувався зниженням концентрації тиреотропіну, тиреоглобуліну, вільних T_4 , T_3 , підвищенням антитіл до тиреоглобуліну та тиреопероксидази в сироватці крові тварин 3-ї і 4-ї груп порівняно з контролем.

Результати досліджень вказують на біологічну безпечність та активуючий вплив на обмін речовин і ріст організму щурів упродовж 40-добового випоювання цитратів наночастинок I, Se, S у дозах: 2,4; 24; 240 мкг йоду/кг, 0,8; 8; 80 мкг Se/кг, 4; 40; 400 мкг S/кг, що дає підстави на проведення подальших наукових пошуків моделей поєднаного застосування цих сполук для коригування функцій гіпофіз-тиреоїдної системи та профілактики низки захворювань, патогенез яких пов'язаний з недостатністю/надлишком надходження чи засвоєння I, Se, S у ссавців.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

**I.I. Kovalchuk^{1,3}, U.I. Tesarivska², R.S. Fedoruk¹,
R.YA. Iskra⁴, M.M. Tsap¹, M.I. Khrabko⁵,
O.I. Koleshchuk³, I.M. Petrukh¹**

**THE INFLUENCE OF DIFFERENT
DOSES OF IODINE, SELENIUM, SULFUR
NANOPARTICLES CITRATES ON THE
ACTIVITY OF THE HYPOPHYSIS-THYROID
SYSTEM AND METABOLISM IN RATS**

¹*Institute of Animal Biology NAAS, Lviv;*

²*State Scientific-Research Control Institute of Veterinary
Medicinal Products and Feed Additives, Lviv;*

³*Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary
Medicine and Biotechnologies of Lviv;*

⁴*Ivan Franko National University of Lviv;*

⁵*Lviv Medical University HPEI; e-mail: mm_tsap@meta.ua*

The use of organic compounds of iodine, selenium, and sulfur is limited due to the complexity of their chemical synthesis. The latest nanotechnological methods of obtaining organic compounds I, Se, S provide the opportunity to replace their mineral and organic salts with citrate mixtures synthesized on the basis of nanotechnology. This provides a perspective for the use of nanocomposition citrates I, Se, S in biology, medicine and animal husbandry. The research aimed to determine the effect of different doses of I, Se, S nanoparticles citrates on the activity of the pituitary-thyroid system and metabolism in the blood of male rats. The animals of the experimental groups received daily with water a mixture of I, Se, S in experimentally determined ratios (3:1:5) by mass of elements and doses, according to the concentration of iodine in µg/kg of body weight: 1–2.4 (low); 2–24 (average); 3–240 (high); 4–2400 (toxic). Blood for laboratory studies was taken on the 40th day of drinking I, Se, S after the decapitation of animals. The content of thyroid-stimulating hormone (TSH), triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), thyroglobulin (Tg), antibodies to thyroglobulin (Anti-Tg) and thyroperoxidase (Anti-TPO), as well as hematological and biochemical indicators characterizing the activity of physiological systems of the body, were determined in the blood. Activation of the body's immune system was established with an increase in the number of monocytes in the blood of rats of the experimental groups under the influence of all applied doses of I, Se, S, and platelets – only in doses of 2.4, 24, and 240 µg of iodine. The effect of the toxic dose led to an increase in the number of leukocytes in the blood of animals of the 4 group, with a decrease in platelets. A probable decrease in the relative level of lymphocytes and an increase in monocytes in the blood of rats in the experimental groups characterized changes in the leukogram of blood. The applied doses of I, Se, S stimulated the synthesis of cholesterol and the influx of calcium into the peripheral blood of rats of the experimental groups. Still, they inhibited the activity of alkaline phosphatase and the creatinine content. The toxic effect of I, Se, S nanoparticles citrates in a dose of 2400 µg of I led to a significant increase in the activity of aminotransferases and a decrease in alkaline phosphatase,

phosphorus level, and body weight in rats. The effect of high and toxic doses of I, Se, S nanoparticles citrates on the functioning of the pituitary-thyroid system led to a decrease in the concentration of TSH, T₃, T₄, and Tg against the background of an increase in Anti-TPO and Anti-Tg in the blood serum of rats of experimental groups.

Key words: rats; blood; metabolism; thyroid hormones; nanoparticles; citrates; iodine; selenium; sulfur.

REFERENCES

1. Oberlis D, Garland B, Skalny A. The biological role of macro- and micronutrients in humans and animals. SPb.: Science; 2008.
2. Antonyak HL, Vlizlo VV. Biochemical and geochemical role of iodine. Ivan Franko Natl Univ Lviv. 2013. [Ukrainian].
3. Nlend MC, Cauvi DM, Venot N, Chabaud O. Role of sulfated tyrosines of thyroglobulin in thyroid hormonesynthesis. *Endocrinology*. 2005;146(II):4834-43.
4. Malavolta M, Mocchegiani E (eds). Trace elements and minerals in health and longevity. Healthy ageing and longevity, 8. Springer Nature Switzerland. 2018.
5. McKenzie RC, Arthur JR, Beckett GJ. Selenium and the regulation of cell signaling, growth, and survival: molecular and mechanistic aspects. *Antioxid Redox Signal*. 2002;4(2):339-51.
6. Spallholz JE, Boylan LM, Larsen HS. Advances in understanding selenium's role in the immune system. *Ann New York Acad Sci*. 1990;587:123-39.
7. Taylor EW. Selenium and cellular immunity. Evidence that selenoproteins may be encoded in the +1 reading frame overlapping the human CD4, CD8, and HLA-DR genes. *Biol Trace Elem Res*. 1995;49:85-95.
8. Hussein AEM, Abbas AM, Wakil GAE, Elsamanoudy AZ, Aziz AAE. Effect of chronic excess iodine intake on thyroid function and oxidative stress in hypothyroid rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90(5):617-25.
9. Loflin J, Lopez N, Whanger PD, Kioussi C. Selenoprotein W during development and oxidative stress. *J Inorg Biochem*. 2006;100(10):1679-84.
10. Mohapatra P, Swain RK, Mishra SK, Behera ZT, Swain ZP, Mishra ZSS, Behura NC, Sabat SC, Sethy K, Dhama K, Jayasankar ZP. Effects of dietary nano-selenium on tissue selenium deposition, antioxidant status and immune functions in layer chicks. *Int J Pharmacol*. 2014;10:160-7.
11. Whanger PD. Selenoprotein expression and function-selenoprotein W. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1790(11):1448-52.
12. Milanesi A, Brent GA. Iodine and thyroid hormone synthesis, metabolism, and action. Molecular, genetic, and nutritional aspects of major and trace minerals. *Acad Press*. 2017:143-50.
13. Kohrle J, Gartner R. Selenium and thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2009;23(6):815-27.
14. Vilarrubias P. The elusive diiodosulphanes and diiodoselenanes. *Mol Physics*. 2022;120(22).
15. Venot N, Nlend MC, Cauvi D, Chabaud O. The hormono-

- genic tyrosine 5 of porcine thyroglobulin is sulfated. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;298(2):193-7.
16. Francioso A, Conrado AB, Mosca L, Fontana M. Chemistry and biochemistry of sulfur natural compounds: key intermediates of metabolism and redox biology. *Hindawi Oxidat Med Cell Long.* 2020:1-27.
17. Klapoetke T, Passmore J. Sulfur and selenium iodine compounds: from non-existence to significance. *Acc Chem Res.* 1989;22(7):234-40.
18. Stojka RS (ed). Multifunctional nanomaterials for biology and medicine: molecular design, synthesis and application. Kyi'v; Naukova dumka. 2017. p. 7-14, 178-95. [Ukrainian].
19. Gulich MP, Yemchenko NL, Kharchenko OO, Yashchenko OV, Tomashevskaya LA, Antomonov MIu. Nanotechnology products: citrates of bioelements (chemical characteristics, biological action, scope). Kyiv: MVTs «Medinform»; 2018. [Ukrainian].
20. Emara S. Comparative effects of nano-selenium and sodium selenite supplementation on blood biochemical changes in relation to growth performance of growing New Zealand white rabbits. *Arab J Nucl Sci Appl.* 2019;52(4):1-14.
21. Iskra RY, Vlizlo VV, Fedoruk RS. Biological efficiency of citrates of microelements in animal breeding. *Agricul Sci Pract.* 2017;4:28-34.
22. Dolaychuk OP, Fedoruk RS, Kovalchuk II, Kropuvka SI, Tsap MM. Physiological data and histology of the thyroid gland of the female and male rats under conditions of watering iodine. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj Series "Veterinary sciences"*. 2014;16(2)(59)Part 2:106-13. [Ukrainian].
23. Khomyn MM, Kovalchuk II, Kropuvka SI, Tsap MM. Biochemical profile of blood and milk of cows by feeding citrate, selenium, chromium, cobalt and zinc. *Sci Tech Bull State Sci Res Cont Inst of Vet Med Prod and Fod Add Inst of Anim Biol.* 2015;16(1):47-53.[Ukrainian].
24. Kosinov MV, Kaplunenko VH. Method metal carboxylates «Nanotechnology receiving metal carboxylates». *Ukr patent UA 38391.* 2009 Jan 12.
25. Islamov R, Kustova T, Nersesyan A, Ilin A. Subchronic toxicity of the new iodine complex in dogs and rats. *Front Vet Sci.* 17 Apr 2020;7(184).
26. Lynnyk OM, Osadcha OI, Kozynets HP, Yanchiy IR, Shmatova OO, Boiarska GM. Features of the immune response formation to thermal trauma. *Fiziol Zh.* 2021;67(6):32-9. [Ukrainian].
27. Dychok AZ, Lesyk YaV, Tsap MM. The resistance of rabbit organism for the effect of sulfur complex. *Animal Biol.* 2018;20(3):16-23. [Ukrainian].
28. Sarkar D, Chakraborty A, Saha A, Chandra AK. Iodine in excess in the alterations of carbohydrate and lipid metabolic pattern as well as histomorphometric changes in associated organs. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2018;29:631-43.

*Матеріал надійшов
до редакції 29.03.2023*