

© Ніколенко Д. Є., Шкурупій О. А., Бойко Д. М.

УДК [616.36+616.12+616.61]: 615.916`28

Ніколенко Д. Є., Шкурупій О. А., Бойко Д. М.

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ТКАНИН ПЕЧІНКИ, СЕРЦЯ ТА НИРОК ЩУРІВ НА ФОНІ ТРАНСТОРАКАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ НАДМАЛИХ ЧАСТИНОК ДИОКСИДУ КРЕМНІЮ (SiO₂)

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

dim.xata@gmail.com

Робота виконана в рамках НДР: «Клініко-функціональні та морфологічні особливості перебігу захворювань респіраторної системи (туберкульозу, саркоїдозу, дисемінованих процесів та ХНЗЛ) на різних етапах лікування, реабілітації та профілактики», № державної реєстрації 0110U008151 та «Комплексна реабілітація хворих на кардіологічну, легеневу, неврологічну патологію та довгострокова оцінка її ефективності з урахуванням ступеня фізичної активності, кардіореспіраторних і метаболічних критеріїв здоров'я», № державної реєстрації 0114U006405.

Вступ. Зростання використання наноматеріалів веде до підвищення потенційного ризику для здоров'я людини [8]. Надмалі частинки володіють унікальними проникними властивостями [7], які обумовлені їх складом, розмірами, формою та поверхнею. Велика увага приділяється саме Si-вмісним наночастинкам [10]. Наночастинки, що містять Si, мають здатність створювати асоціації з клітинами крові (В-ліфоцитами), білками плазми та циркулювати у системному кровотоці і відповідно, реалізовувати різні сценарії впливу на тканини організму [7]. Так, частинки діоксиду кремнію та титану розміром 70 нм та 35 нм викликають ускладнення вагітності у щурів після їх внутрішньовенного введення, а органами «мішенями» були плацента, печінка та мозок плода [8].

За даними наших попередніх досліджень виявлено, що під час трансторакального введення наночастинок пірогенного кремнезему SiO₂ з метою моделювання гранулематозного запалення, ураження мало розповсюджений характер та охоплювало усю легеню [1]. Розмір наночастинок пірогенного кремнезему SiO₂ варіює від 56 до 7 нм, а характерні фізико-хімічні властивості обумовлюють його потенційно високі проникні властивості [3].

Проблема впливу надмалих частинок на живі організми є надзвичайно актуальною та потребує детального вивчення. Ураховуючи значні ушкоджуючі властивості надмалих частинок SiO₂ [6,9] нами було прийнято рішення проаналізувати гіпотезу про наявність системних змін у ключових органах (печінка, серце та нирки) організму піддослідних тварин після їх трансторакального введення [1].

Мета дослідження. Виявити та проаналізувати стан морфологічних змін у тканинах печінки, серця

та нирок щурів на фоні трансторакального введення надмалих частинок SiO₂.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження виконано на базі віварію ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Експериментальну частину дослідження з використанням тварин проведено за міжнародними принципами Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та в інших наукових цілях» (Страсбург, 1985) та норм біомедичної етики, відповідно до Закону України № 3446-IV 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» з медико-біологічними дослідженнями та дотриманням етичного кодексу лікаря України й ученого. Загальна тривалість експерименту становила 8 тиж. Щурам одноразово трансторакально вводили суспензію наночастинок пірогенного кремнезему SiO₂ («Асил-300», ТУ У 24.6-05540209-003-2003, ДП «Калуський дослідно-експериментальний завод ІХП НАН України») з розрахунку 10 мг на 100 г маси тіла в 0,3 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. У дослідження було введено результати групи з 12 щурів лінії Вістар масою (258,2 ± 54,8) грамів та віком (7,2 ± 0,98) місяці. Експериментальна та контрольна групи включали по 6 особин. Цим тваринам не призначали лікувальні засоби. Щурам проведено комплексне клініко-лабораторне, макро- та мікроскопічне морфологічне дослідження. Вилучені від експериментальних тварин тканини готували до світлооптичної мікроскопії за загальноприйнятою методикою [2]. Препарати фарбували за допомогою гематоксиліну та еозину. Аналіз мікроскопічних змін у легенях, серцевому м'язі, печінці та нирках щурів проводили на 8-му тижні експерименту.

Результати досліджень та їх обговорення. Серед щурів з характерними ознаками гранулематозного запалення в легенях (**рис. 1 а**), на відміну від тварин контрольної групи (**рис. 1 е**), зафіксовано цілу низку позалегенових змін у внутрішніх органах.

При дослідженні гістологічних препаратів міокарду серця щурів експериментальної групи (**рис. 1 б**) спостерігались гіперемовані мікросудини з ознаками складування еритроцитів, різко виражений набряк інтерстиціальної сполучної тканини. Кардіоміоцити здебільш прямокутної форми з наявністю поперечної посмугованості і ті, що її втратили. Ядра кардіоміоцитів мають овальну видовжену форму, містять

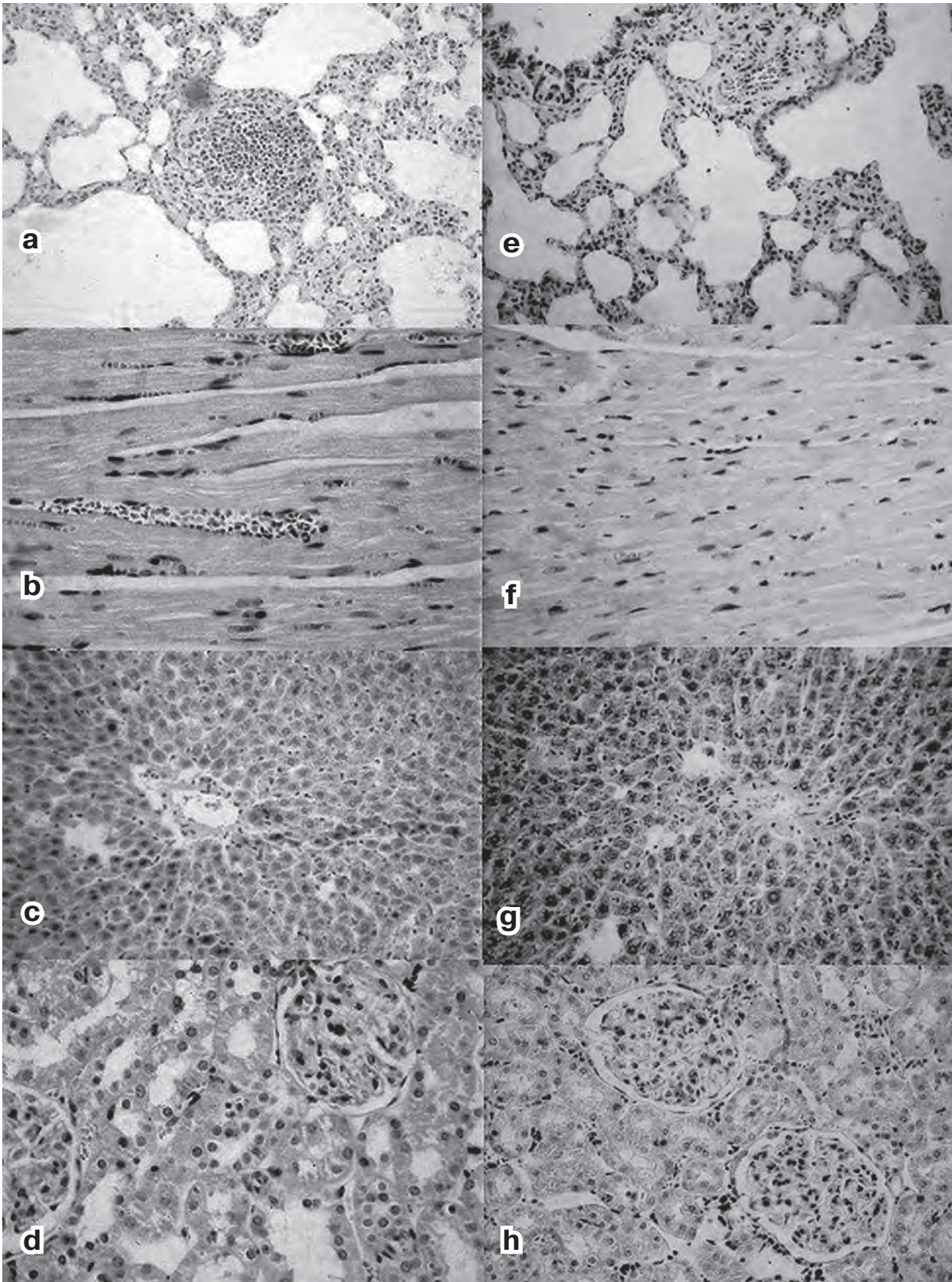


Рис. 1. Морфологічна характеристика змін тканини легень (а), печінки (b), серця (c) та нирок (d) на фоні трансторакального введення наночастинок пірогенного кремнезему SiO_2 у порівнянні з інтактними щурами (e, f, g, h). Збарвлення гематоксилином та еозином. Зб. $\times 200$.

поодинокі глибокі гетерохроматину. Також виявлені ядра клітин блідо-синього кольору з ознаками часткового лізису. Таким чином, в міокарді серця дослідних щурів виявлені розлади кровообігу з порушенням реологічних властивостей крові, набряк інтерстицію, а також поодинокі кардіоміоцити з деструктивними явищами. На сьогоднішній день ми не знайшли наукових робіт присвячених саме мітоксичності наночастинок SiO₂, проте відомо, що у міоцитах під дією надмалих часнинок (близько 4,5 нм) перш за все порушується робота мітохондрій, активізуються механізми апоптозу та синтезу цитокінів (IFN-γ, TGF-β1) і уцілому підтримуються фенотипи прозапального та профіброгенного характеру [5].

Патоморфологічне дослідження гістологічних препаратів печінки (рис. 1 с) не виявило суттєвих деструктивних змін. Так, в тканині печінки виявлені ледь відмежовані печінкові часточки зі збереженими балками. Гепатоцити, що їх утворюють, мають полігональну будову, ядро з декількома ядрцями, а в цитоплазмі брильчасті вклучення, подекуди дрібні оптично порожні вакуолі. Нечислені Купферовські клітини мають видовжену форму, темно-рожеву цитоплазму. В ділянках печінкових триад виявлена незначна круглоклітинна інфільтрація. Привертають увагу різко розширені і переповнені кров'ю центральні вени часточок печінки тварини. Останнє свідчить про наявність венозного повнокров'я в системі порожнистої вени. Ураховуючи вищенаведені дані, можна підвести підсумок, що локальне введення часточок SiO₂ у легеневу тканину не асоціюється зі значними морфологічними змінами тканин печінки на відміну від внутрішньовенного введення [4,8].

На 8-му тижні після трансторакального введення мікрочасточок SiO₂ виявлені зміни альтеративного

характеру в епітелії каналців нирок та судинних клубочків даного органу (рис. 1 d). Велике збільшення тканини коркової речовини нирок щурів дозволило деталізувати особливості вищевказаних змін. Так, в судинних клубочках ниркових тілець спостерігається нерівномірне кровонаповнення гемокапілярів. Останні займають майже весь просвіт капсули клубочка. В стінці даних капілярів виявлено набухання і гомогенізацію сполучної тканини, що призвело до збільшення їх об'єму. Також виявлено локальне набухання ендотеліальних клітин судинних клубочків, які подекуди мають подвоєне ядро. Разом з цим, в ділянках мукоїдного набрякання тканини, кількість клітин зменшена і мають місце явища каріолізису. Під час трансторакального введення надмалих частинок SiO₂ зафіксовані ушкодження нирок подібні таким, що виникають після їх трансбронхіального введення [4].

Висновки

Локальне введення надмалих частинок SiO₂ асоціюється з помірними гемодинамічними і реологічними порушеннями на рівні мікроциркуляторного русла та дрібновогнищевими альтеративними змінами в кардіоміоцитах серця; гемодинамічними розладами в тканині печінки щурів. Головним органом-«мішенню» в даному експерименті є нирки з переважанням змін альтеративного характеру в судинних клубочках ниркових тілець та епітелії каналців. Трансторакальний шлях введення у перспективі можна розглядати в якості методу доставки надмалих частинок під час моделювання експериментальної патології.

Перспективи подальших досліджень

Дослідити та обґрунтувати ушкоджуючі властивості та механізми системного поширення надмалих частинок SiO₂.

Література

1. Бойко М.Г. Експериментальна модель ініційованого SiO₂ гранулематозного запалення у легенях щурів [Текст] / М.Г. Бойко, Д.М. Бойко, Д.Є. Ніколенко // Туберкульоз. Легеневі хвороби. ВІЛ-інфекція. – 2013. – № 1 (12). – С. 10-14.
2. Морфологічні зміни серця старих щурів при тривалому введенні активаторів КАТФ- каналів (діазоксиду та його аналогів) [Текст] / К.В. Тарасова [та ін.] // Проблемы старения и долголетия. – 2011. – Том 20, № 4. – С. 381-392.
3. Хемосорбція олігомерного полідиметилсилоксану на поверхні пірогенного кремнезему [Текст] / І.Ф. Миронюк, С.А. Курта, Т.В. Гергель, [та ін.] // ФІЗИКА І ХІМІЯ ТВЕРДОГО ТІЛА. – 2009. – Том 10. – № 1. – С. 157-165.
4. Body distribution of SiO₂-Fe₃O₄ core-shell nanoparticles after intravenous injection and intratracheal instillation [Text] / S. Smulders, A. Ketkar-Atre, K. Luyts, [et al.] // Nanotoxicology. – 2015. – Vol. 2. – P. 1-8.
5. Gold nanoparticles do not induce myotube cytotoxicity but increase the susceptibility to cell death [Text] / P.E. Leite, M.R. Pereira, C.A. Nascimento Santos, [et al.] // Toxicol In Vitro. – 2015. – Vol. 29. – № 5. – P. 819-827.
6. Kendall M. Long-term monitoring for nanomedicine implants and drugs [Text] / M. Kendall, I. Lynch // Nature Nanotechnology. – 2016. – Vol. 11. – P. 206-210.
7. Malysheva A. Bridging the divide between human and environmental nanotoxicology [Text] / A. Malysheva, E. Lombi, N.H. Voelcker // NATURE NANOTECHNOLOGY. – Vol. 10. – P. 835-844.
8. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice [Text] / K. Yamashita, Y. Yoshioka, K. Higashisaka, [et al.] // Nature Nanotechnology. – 2011. – Vol. 6. – P. 321-328.
9. Systemic distribution, nuclear entry and cytotoxicity of amorphous nanosilica following topical application. [Text] / H. Nabeshi, T. Yoshikawa, K. Matsuyama [et al.] // Biomaterials. – 2011. – Vol. 32. – № 11. – P. 2713-2724.
10. Yoshioka Y. Nano-safety science for sustainable nanotechnology [Text] / Y. Yoshioka, Y. Tsutsumi // Yakugaku Zasshi. – 2014. – Vol. 134. – № 6. – P. 737-742.

УДК [616.36+616.12+616.61]: 615.916`28

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ТКАНИН ПЕЧІНКИ, СЕРЦЯ ТА НИРОК ЩУРІВ НА ФОНІ ТРАНСТРАКАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ НАДМАЛИХ ЧАСТИНОК ДИОКСИДУ КРЕМНІЮ (SiO₂)

Ніколенко Д. Є., Шкурупій О. А., Бойко Д. М.

Резюме. Проблема впливу надмалих частинок на живі організми є надзвичайно актуальною та потребує детального вивчення. Ураховуючи значні ушкоджуючі властивості надмалих частинок SiO₂ нами було прийнято

рішення проаналізувати гіпотезу про наявність системних змін у ключових органах (печінка, серце та нирки) організму піддослідних тварин після їх трансторакального введення.

Дослідження виконано на базі виварію ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Щурам одноразово трансторакально вводили суспензію наночастинок пірогенного кремнезему SiO_2 . Аналіз мікроскопічних змін у легенях, серцевому м'язі, печінці та нирках щурів проводили на 8-му тижні експерименту.

Локальне введення частинок SiO_2 може асоціюватись з незначними морфологічними змінами у печінці та тканинах міокарду серця щурів, а головним органом-мішенню в даному експерименті є нирки. Трансторакальний шлях введення у перспективі можна розглядати в якості методу доставки надмалих частинок під час моделювання експериментальної патології.

Ключові слова: наночастинки, SiO_2 , печінка, серце, нирки, щури.

УДК [616.36+616.12+616.61] : 615.916`28

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК КРЫС НА ФОНЕ ТРАНСТОРАКАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СВЕРХМАЛЫХ ЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ (SiO_2)

Николенко Д. Е., Шкурूपий А. А., Бойко Д. Н.

Резюме. Проблема влияния сверхмалых частиц на живые организмы является чрезвычайно актуальной и требует детального изучения. Учитывая значительные повреждающие свойства сверхмалых частиц SiO_2 нами было принято решение проанализировать гипотезу о наличии системных изменений в ключевых органах (печень, сердце и почки) организма экспериментальных животных после их трансторакального введения.

Исследование выполнено на базе вивария ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия». Крысам однократно трансторакально вводили суспензию наночастиц пирогенного кремнезема SiO_2 . Анализ микроскопических изменений в легких, сердечной мышце, печени и почках крыс проводили на 8-й неделе эксперимента.

Локальное введение частиц SiO_2 может ассоциироваться с незначительными морфологическими изменениями в печени и тканях миокарда сердца крыс, а главным органом-мишенью в данном эксперименте являются почки. Трансторакальный путь введения в перспективе можно рассматривать в качестве метода доставки сверхмалых частиц при моделировании экспериментальной патологии.

Ключевые слова: наночастицы, SiO_2 , печень, сердце, почки, крысы.

UDC [616.36+616.12+616.61] : 615.916`28

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHANGES IN LIVER, HEART AND KIDNEY TISSUES OF RATS ON THE BACKGROUND OF TRANSTHORACIC INTRODUCTION OF ULTRA-SMALL SILICON DIOXIDE PARTICLES (SiO_2)

Nikolienko D. Ye., Shkurupiy O. A., Boiko D. M.

Abstract. The problem of the smallest particles influence on the living organisms is extremely important and requires detailed research. Considering significant damaging properties of the smallest SiO_2 particles, it was decided to analyze the hypothesis of systemic changes existing in the main organs (liver, heart and kidneys) of experimental animals after transthoracic introduction.

Given research was carried out on the basis of vivarium HSEE "Ukrainian Medical Stomatological Academy". The total duration of experiment was 8 weeks. The suspension of fumed silica SiO_2 particles were injected one time to rats transthoracically. The results of the group consisting of 12 Vistar line rats with mass ($258,2 \pm 54,8$) grams and aged ($7,2 \pm 0,98$) months were represented in the study. The experimental and control groups consisted of 6 animals. Rats were underwent complex clinical, laboratory, macro and microscopic morphological examinations on 8 week of the experiment.

Circulatory disorders with impaired rheological properties of blood, interstitium swelling, as well as isolated cardiomyocytes with destructive events were revealed in the heart myocardium of experimental rats. In the areas of hepatic triads the slight round cell infiltration was observed. Sharply dilated and filled with blood central veins of the liver lobules of the animal were defined. The latter indicates the presence of venous congection in vena cava system. On 8 week after transthoracic introduction of SiO_2 microparticles the changes of alternative character in the epithelium of kidney tubules and vascular glomeruli of the organ were revealed. Thus, irregular blood filling of hemocapillaries was determined in glomeruli of the renal corpuscles. The latter occupy almost entire lumen of the glomerulus capsule. Swelling and homogenization of connective tissue, that caused the increase of their volume were observed in the wall of given capillaries. The local swelling of endothelial cells of vascular glomeruli, which somewhere have double nucleus was also revealed. However, in the areas of mucoid swelling of the tissue, the number of cells is reduced and karyolysis phenomena occur.

Local introduction of ultra-small SiO_2 particles is associated with moderate hemodynamic and rheological disorders at the level of the microcirculatory bloodstream and microfocal alternative changes in heart cardiomyocytes; hemodynamic disorders in liver tissue of rats. The main target organs in this experiment are kidneys, with prevalence of alternative changes in vascular glomeruli of renal corpuscles and tubular epithelium. In future the way of transthoracic administration can be considered as the method of ultra-small particles delivery in the simulation of experimental pathology.

Keywords: nanoparticles, SiO_2 , liver, heart, kidneys, rats.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 09.03.2016 року