

УДК 611.1/.6-018:615.916.015.3:546.76

К. В. САДОГУРСЬКА

Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет»

ТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ТА МОРФОСТРУКТУРА ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ДІЇ НАНОХРОМУ ЦИТРАТУ

Наведено токсикологічну характеристику з вивченням морфоструктури внутрішніх органів щурів за тривалого (15 днів) внутрішньоочередового введення нанохрому цитрату (НХЦ) у зростаючих дозах. Установлено, що при введенні НХЦ у дозах 0,04 мг/кг, 0,11 мг/кг поведінкова активність тварин, приріст маси тіла, масові коефіцієнти внутрішніх органів (печінки, нирок, серця, легенів, селезінки, підшлункової залози) та їх морфоструктура суттєво не відрізняються від показників контрольних тварин. При введенні НХЦ в більшій дозі (0,22 мг/кг) спостерігається пригнічення дихання, зниження рухової активності тварин, зменшення приросту маси тіла, масового коефіцієнту легенів, а також пошкодження морфоструктури епітелію бронхів і проксимальних канальців нирок.

Ключові слова: нанохрому цитрат; токсичність; морфоструктура органів; щури

ВСТУП

В останні роки в Україні і світі у різних галузях діяльності людини зростає інтерес до нанотехнологій, у тому числі і до нанобіології та наномедицини [2, 11]. На особливу увагу заслуговує пошук природних наноструктур біометалів, які регулюють важливі біохімічні та фізіологічні функції в організмі [12]. У Національному медичному університеті ім. О. О. Богомольця активно проводяться дослідження щодо вивчення токсикологічних і фармакологічних властивостей наносполук – металів срібла, заліза, міді, цинку та ін. [4, 7, 10].

Перспективними структурами для застосування у наномедицині можуть бути і наночастинки хрому [8]. Відомо, що хром як мікроелемент відіграє важливу роль у вуглеводневому обміні, допомагає підтримувати нормальний рівень глюкози в крові завдяки регуляції продукції та метаболізму інсуліну [1, 14]. Хром також бере участь в обміні ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, знижує рівень холестерину в крові, разом з йодом забезпечує функціонування щитоподібної залози [17]. Добова потреба хрому для людини в середньому становить 50-200 мкг [16]. Його дефіцит викликає порушення життєво важливих процесів в організмі, виникають симптоми подібні до тих, що спостерігаються при цукровому діабеті та серцево-судинних захворюваннях [13]. Органічні сполуки хрому (хрому цитрат, піколінат, нікотинат) краще всмок-

туються і засвоюються організмом порівняно з неорганічними (хрому хлоридом) [15, 18]. Поповнення цього мікроелементу в організмі аліментарним шляхом можливе при вживанні багатих на хром продуктів харчування (риби, печінки яловичої, м'яса птиці, яєць, пивних дріжджів та ін.), а також при застосуванні хромовмісних біологічно активних добавок, присутніх на фармацевтичному ринку України («Хром Активний», «Ананас із зеленим чаєм+Хром» (Україна), «ВітаХром», «Нутрикон Хром» (Росія), «Хром Хелат» (США), «Хромвітал+» (Ірландія)).

В Українському державному науково-дослідному інституті нанобіотехнологій і ресурсозбереження розроблено оригінальний метод отримання органічної сполуки нанохрому – нанохрому цитрату [9]. У науковій літературі з'явилися експериментальні дослідження з можливого застосування НХЦ у ветеринарній практиці [5, 6]. Додавання до основного раціону малих доз НХЦ покращує у тварин апетит, збільшує середньодобовий приріст маси тіла [19]. Однак на сьогодні необхідні подальші дослідження з вивчення токсикологічної характеристики НХЦ, а також виявлення його фармакологічних властивостей з метою можливого використання у медичній практиці.

Враховуючи вищевикладене, метою даної роботи ми визначили вивчення токсикологічних властивостей НХЦ за умов тривалого застосування в зростаючих дозах з аналізом впливу на морфологічну структуру внутрішніх органів.

© Садогурська К. В., 2015

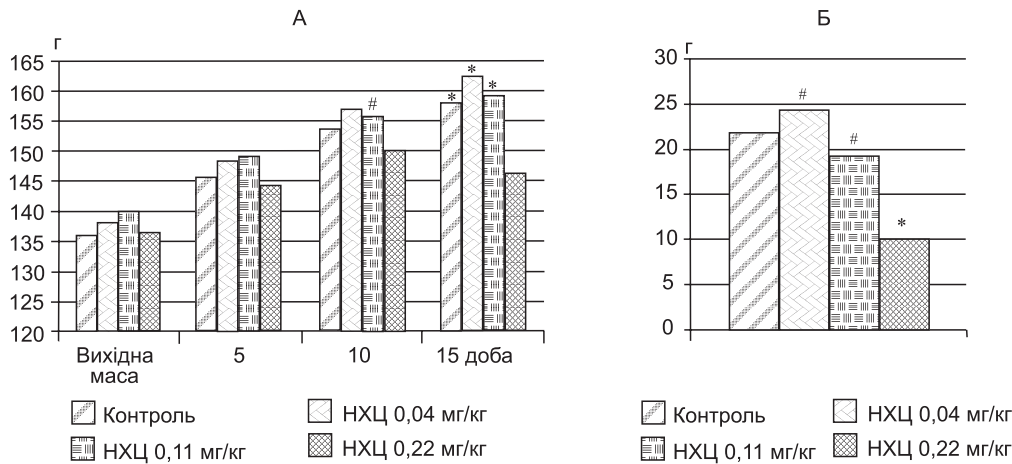


Рис. 1. Вплив нанохрому цитрату А на динаміку зміни маси тіла щурів, г (* – різниця вірогідна порівняно з вихідною масою, # – різниця вірогідна порівняно з попереднім періодом); Б – на загальний приріст маси тіла щурів, г (* – різниця вірогідна порівняно з контрольними тваринами, # – різниця вірогідна порівняно з дією нанохрому цитрату в дозі 0,22 мг/кг).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на статевозрілих нелінійних щурах масою 150-200 г. Утримання тварин та всі маніпуляції відбувалися відповідно до методичних рекомендацій [3] та Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються за дослідницькими та іншими цілями (Страсбург, 1986). Експериментальні тварини були розподілені на чотири групи по 8 особин у кожній. Упродовж 15 днів тваринам щоденно внутрішньоочеревинно вводили розчин НХЦ (ТОВ «Наноматеріали та нанотехнології», 200 мг/л) в дозах: 0,04 мг/кг, 0,11 мг/кг, 0,22 мг/кг, що згідно з нашими дослідженнями відповідає становить 1 %, 2,5 %, і 5 % від DL_{50} . Тваринам контрольної групи в аналогічному об'ємі, що і дослідним вводили воду для ін'єкцій (ФФ «Здоров'я», Україна). Стежили за поведінкою тварин, через кожні п'ять днів зважували, реєстрували зміни маси тіла (приріст, зменшення). У токсикологічних дослідженнях серед інших інтегральних показників функціонального стану організму для виявлення органів-мішеней доцільно використовувати не тільки показники маси тіла, а й масові коефіцієнти внутрішніх органів [3]. Для цього на 15 добу тварин під легким ефірним наркозом знеживлювали одномоментною декапітацією, вилучали органи (печінку, нирки, серце, легені, селезінку, підшлункову залозу), зважували на торсійних терезах і вираховували коефіцієнти маси органів відносно кінцевої маси тіла тварин за формулою: $K_m = m \text{ органу, г} \times 100 / m \text{ тварини, г}$. Для патоморфологічних досліджень шматочки вилучених органів фіксували у 10 %-му розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у батареї висхідних спиртів та заливали у парафін. Парафінові зрізи (5 мкм завтовшки) після депарафінізації фарбували гематоксилином і еозинном загальновизнаним способом. Пофарбовані гістологічні препарати вивчали у світ-

лооптичному мікроскопі. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програм «Excel-7» та параметричних методів статистики з визначенням t-критерію Стьюдента. Різницю вважали вірогідною при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При введенні НХЦ тваринам у дозах 0,04 мг/кг і 0,11 мг/кг рухова активність, харчова поведінка, частота дихання суттєво не відрізнялися від показників контрольних тварин. У більшій дозі (0,22 мг/кг) спостерігалася пригнічення рухової активності, утруднення дихання із сповільненою частотою дихальних актів та зниження апетиту.

Контроль за динамікою змін маси тіла тварин впродовж 15 днів засвідчив, що при щоденному введенні НХЦ у дозі 0,04 мг/кг спостерігається збільшення приросту маси тіла порівняно з контрольними тваринами (рис. 1).

Кінцева маса тіла щурів зросла на $24,4 \pm 1,89$ г ($P < 0,05$) порівняно з вихідною масою, загальний приріст маси склав 17,7 %. Отримані дані узгоджуються з даними літератури [19]. При дозі (0,11 мг/кг) зростання маси тіла тварин суттєво не відрізнялося від показників контрольних тварин, однак загальний приріст маси виявився меншим (13,8 % проти вихідної маси).

При щоденному введенні НХЦ в дозі (0,22 мг/кг) приріст маси тіла тварин у перші 5 днів суттєво не відрізнявся від приросту контрольних тварин, а у наступні 5 днів спостерігалася незначне відставання приросту маси тіла ($5,6 \pm 1,48$ г проти $8,1 \pm 0,91$ г у контролі). Через 10 днів введення НХЦ приросту маси тіла тварин не відбувалося, на 15 добу маса тіла зменшилася на $3,13 \pm 1,32$ г порівняно з попереднім періодом. У цілому кінцева маса тварин на тлі курсового введення НХЦ зросла на $10,2 \pm 3,89$ г, приріст

МАСОВІ КОЕФІЦІЄНТИ (K_m) ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ЩУРІВ ПІСЛЯ ТРИВАЛОГО (15 ДІБ) ВВЕДЕННЯ НАНОХРОМУ ЦИТРАТУ (НХЦ), ($M \pm m$, $n = 8$)

Умови досліджу	Досліджувані органи											
	печінка		нирки		серце		легені		селезінка		підшлункова залоза	
	маса, г	K_m	маса, г	K_m	маса, г	K_m	маса, г	K_m	маса, г	K_m	маса, г	K_m
Контроль	4,57 ± 0,18	2,89 ± 0,08	0,46 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,71 ± 0,02	0,45 ± 0,02	1,59 ± 0,13	1,01 ± 0,07	0,66 ± 0,02	0,42 ± 0,02	0,53 ± 0,03	0,34 ± 0,03
НХЦ 0,04 мг/кг	4,67 ± 0,07	2,87 ± 0,03	0,47 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,78 ± 0,02	0,48 ± 0,01	1,67 ± 0,02	1,03 ± 0,01	0,68 ± 0,01	0,42 ± 0,01	0,53 ± 0,03	0,33 ± 0,02
НХЦ 0,11 мг/кг	4,59 ± 0,05	2,88 ± 0,03	0,47 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,69 ± 0,01	0,43 ± 0,01	1,62 ± 0,02	1,02 ± 0,01	0,67 ± 0,02	0,42 ± 0,01	0,54 ± 0,06	0,34 ± 0,03
НХЦ 0,22 мг/кг	4,29 ± 0,14	2,93 ± 0,09	0,43 ± 0,02	0,29 ± 0,01	0,69 ± 0,05	0,47 ± 0,03	1,12 ± 0,02 $p < 0,05$	0,76 ± 0,03	0,62 ± 0,04	0,42 ± 0,03	0,54 ± 0,06	0,37 ± 0,04

Примітка. Р – ступінь достовірності порівняно з контролем.

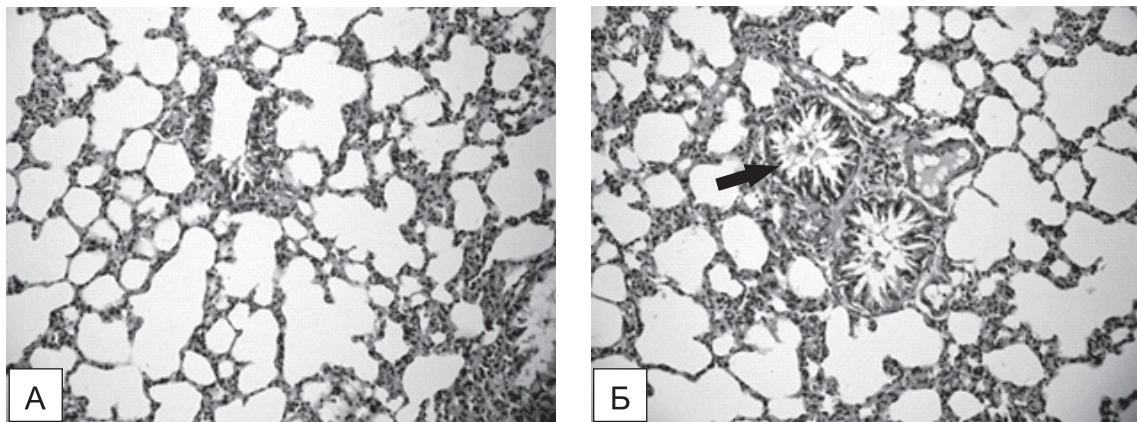


Рис. 2. Морфоструктура легені щура. А – контроль, Б – за умов дії нанохрому цитрату. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Стрілкою вказані два бронхи середнього калібру у поперечному розрізі. Ок.10[×]. Об.10[×].

маси склав лише 7,47 %, що в 2,16 рази менше, ніж у контрольних тварин. Порівнюючи з тваринами, яким вводили сполуку в дозі вдвічі меншій (0,11 мг/кг), приріст маси тіла був більший в 1,85 рази, а порів-

няно з введенням НХЦ ще в меншій дозі (0,04 мг/кг) приріст маси тіла був більшим в 2,4 рази (рис. 1), що свідчить про зменшення токсичного впливу сполуки при введенні в менших дозах.

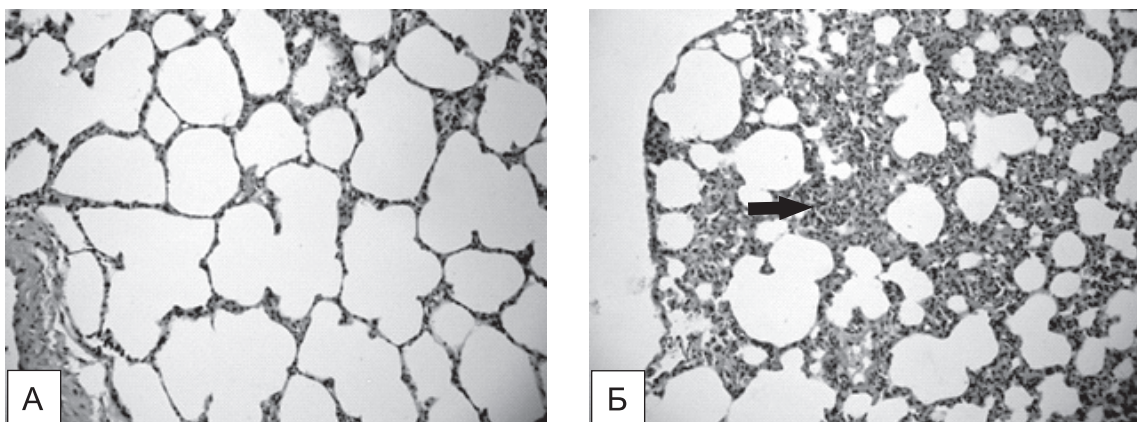


Рис. 3. Морфоструктура респіраторного відділу легені щура. А – контроль, Б – за умов дії нанохрому цитрату. Стрілкою вказано найбільш потовщену ділянку міжальвеолярних перетинок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок.10[×]. Об.10[×].

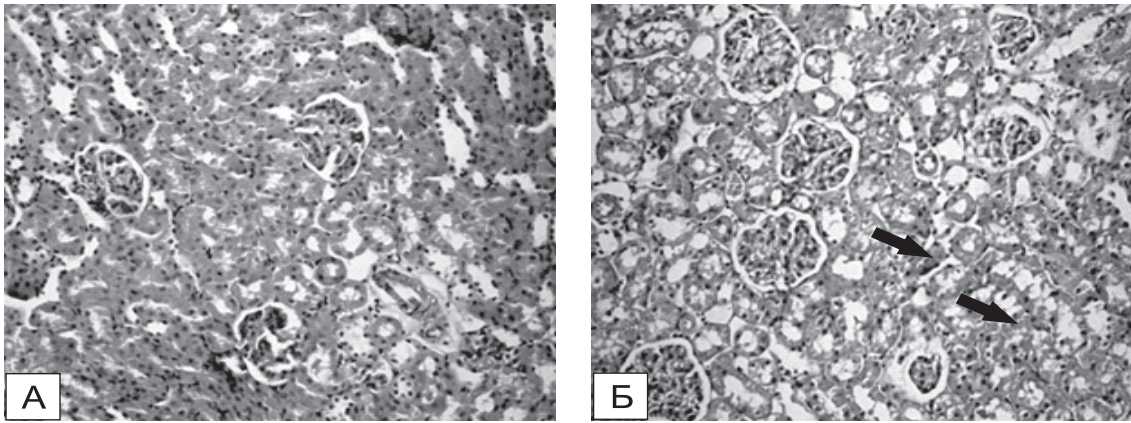


Рис. 4. Морфоструктура кіркового шару нирки щура. А – контроль, Б – за умов дії нанохрому цитрату. Стрілками вказані епітеліальні клітини проксимальних канальців з проявами гідропічного набухання. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок.10°. Об.10°.

Проведений аналіз відносної маси внутрішніх органів до кінцевої маси тіла тварин при курсовому введенні НХЦ у зростаючих дозах не виявив відхилень масових коефіцієнтів печінки, нирок, серця, селезінки та підшлункової залози, однак порівняно з контролем вірогідно зменшився на 24,8 % масовий коефіцієнт легенів при курсовому введенні НХЦ у дозі 0,22 мг/кг (табл.).

Проведені патоморфологічні дослідження гісто­структури внутрішніх органів після курсового вве­дення НХЦ у дозі 0,04 мг/кг та 0,11 мг/кг не вияви­ли відхилень від норми. При введенні НХЦ в біль­шій дозі (0,22 мг/кг) в легенях спостерігалось пошкоджен­ня епітеліальних клітин бронхів переважно дрібно­го та середнього калібру у вигляді десквамації епі­теліоцитів з поширенням даного процесу на 64,8 ± 0,95 % бронхів (рис. 2).

Спостерігалось також ураження стінок респіра­торних відділів легенів (альвеол, респіраторних брон­хіол) з переважанням процесів під плеврою, що супро­воджувалось їх потовщенням внаслідок проліфера­ції стромальних клітин (рис. 3).

При гістологічному пошаровому дослідженні ни­рок патоморфологічних змін у мозковій речовині та сосочку не виявлено, а у кірковій речовині спосте­рігались патологічні зміни епітеліоцитів проксималь­них канальців нирок у вигляді гідропічного набухан­ня з охопленням $28,2 \pm 0,74$ % (рис. 4).

ВИСНОВКИ

1. Нанохрому цитрат при тривалому (15 діб) щоденно­му введенні щурам у дозах 0,04 мг/кг, 0,11 мг/кг не впливав на рухову активність, зміни маси тіла, масові коефіцієнти внутрішніх органів (печінки, нирок, серця, легенів, селезінки, підшлункової залози), а також їх морфоструктуру.
2. При введенні сполуки у більшій дозі (0,22 мг/кг) пригнічується дихання, зменшується рухова ак­

тивність, інтенсивність приросту маси тіла тва­рин, масовий коефіцієнт легенів, виникають де­структивні зміни морфоструктури епітелію брон­хів та проксимальних канальців нирок.

3. Тривале уведення НХЦ у зростаючих дозах збіль­шує токсичний прояв сполуки на організм тварин.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Авцын А. П. Микроэлементозы человека / [А. П. Ав­цын, А. А. Жаворонков, М. А. Раш и др.]. – М.: Ме­дицина, 1991. – 496 с.
2. Борисевич В. Б. Наноматеріали в біології. Осно­ви нановетеринарії / В. Б. Борисевич, В. Г. Ка­плуненко, М. В. Косінов. – К.: Авіценна, 2010. – 416 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод, рекомен­д.] / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Аві­ценна, 2001. – 528 с.
4. Дорошенко А. М. Дослідження гострої токсично­сті наночастинок заліза при внутрішньошлунко­вому та внутрішньовенному шляхах введення / А. М. Дорошенко // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2014. – № 1 (37). – С. 48-57.
5. Іскра Р. Я. Мікроелементи тканин внутрішніх ор­ганів щурів за дії хлориду і наноцитрату хрому / Р. Я. Іскра // Мед. хімія. – 2011. – Т. 13, № 3. – С. 31-35.
6. Іскра Р. Я. Фізіолого-біохімічні особливості ме­таболізму у самців і самок щурів за дії цитрату нанохрому / Р. Я. Іскра // Клін. та експеримент. патол. – 2012. – Т. 11, № 2 (40). – С. 49-51.
7. Прискока А. О. Дослідження гострої токсичності наночастинок срібла за внутрішньоочеревинно­го введення / А. О. Прискока // Фармакол. та лі­карська токсикол. – 2014. – № 1 (37). – С. 85-90.
8. Садогурська К. В. Хром і нанохром: властивості, перспективи застосування у медичній практиці

- / К. В. Садогурська, В. Г. Каплуненко, І. С. Чекман // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 1 (99). – С. 14-16.
9. Сердюк А. М. Нанотехнології мікронутрієнтів: проблеми, перспективи та шляхи ліквідації дефіциту макро- та мікроелементів / А. М. Сердюк, М. П. Гуліч, В. Г. Каплуненко, М. В. Косінов // Журн. НАМН України. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 107-112.
 10. Сімонов П. В. Вплив колоїдного розчину наночастинок міді на роботу серця та показники системної гемодинаміки у кролів / П. В. Сімонов // Лікарська справа. – 2013. – № 5. – С. 110-114.
 11. Чекман І. С. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація / [І. С. Чекман, З. Н. Ульберг, В. О. Маланчук та ін.]. – К.: Поліграф плюс, 2012. – 328 с.
 12. Чекман І. С. Нанофармакологія / І. С. Чекман. – К.: Задруга, 2011. – 424 с.
 13. Anderson R. A. Dietary chromium deficiency: effect on sperm count and fertility in rats / R. A. Anderson, M. M. Polansky // Biol. Trace Element Res. – 1981. – Vol. 3, № 1. – P. 1-5.
 14. Anderson R. A. Chromium, glucose intolerance and diabetes / R. A. Anderson // J. Am. Coll. Nutr. – 1998. – Vol. 17, № 6. – P. 548-555.
 15. Cefalu W. T. Role of Chromium in Human Health and in Diabetes / W. T. Cefalu, F. B. Hu // Diabetes Care. – 2004. – Vol. 27, № 14. – P. 2741-2751.
 16. National Research Council (NRC). Chromium / In Recommended Dietary Allowances National Academy of Sciences, National Academy Press, Washington, 1989. – P. 241-243.
 17. Pechova A. Chromium as an essential nutrient: a review / A. Pechova, L. Pavlata // Veterinarni Medicina. – 2007. – Vol. 52, № 1. – P. 1-18.
 18. Vincent J. B. The Nutritional Biochemistry of Chromium (III). Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa. – USA, 2007. – 277 p.
 19. Zha L. Y. Effects of chromium nanoparticle dosage on growth, body composition, serum hormones and tissue chromium in Sprague-Dawley rats / L. Y. Zha, Z. R. Xu, M. Q. Wang, L. Y. Gu // J. Zhejiang Univ. Sci. B. – 2007. – Vol. 8, № 5. – P. 323-330.

УДК 611.1/.6-018:615.916.015.3:546.76

Е. В. Садогурская

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И МОРФОСТРУКТУРА ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОХРОМА ЦИТРАТА

Приведена токсикологическая характеристика с изучением морфоструктуры внутренних органов крыс при длительном (15 суток) внутривентральном введении нанохрома цитрата (НХЦ) в нарастающих дозах. Установлено, что при введении НХЦ в дозах 0,04 мг/кг, 0,11 мг/кг активность поведения животных, прирост массы тела, массовые коэффициенты внутренних органов (печени, почек, сердца, легких, селезенки, поджелудочной железы) и их морфоструктура существенно не отличаются от показателей контрольных животных. При введении НХЦ в большей дозе (0,22 мг/кг) прослеживается угнетение дыхания, снижение двигательной активности животных, уменьшение прироста массы тела, массового коэффициента легких, а также повреждение морфоструктуры эпителия бронхов и проксимальных канальцев почек.

Ключевые слова: нанохрома цитрат; токсичность; морфоструктура органов; крысы

UDC 611.1/.6-018:615.916.015.3:546.76

K. V. Sadogurska

TOXICOLOGICAL ESTIMATION AND MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE INTERNAL ORGANS OF RATS UNDER PROLONGED ACTION OF NANOCHROMIUM CITRATE

The work presents toxicological characteristics with the study of morphological structure of the internal organs of rats under prolonged (15 days) intraperitoneal injection of nanochromium citrate (NCC) in incremental doses. Behavioral activity of animals, weight gain, mass coefficients of the internal organs (liver, kidneys, heart, spleen, pancreas) and their morphological structure were not found to differ from the indices of the control animals in case of NCC injection in the doses 0.04 mg/kg, 0.11 mg/kg. When NCC was injected in higher dose (0.22 mg/kg) the following changes were observed: inhibition of respiration, decrease of motion activity of animals, low weight gain, decrease of mass lung coefficient as well as injury of the morphological structure of the bronchial epithelium and proximal kidney tubules.

Key words: nanochromium citrate; toxicity; morphological structure of organs; rats

Адреса для листування:
58000, м. Чернівці, вул. Ольжича, 1.
Тел. (099)-029-04-17.
E-mail: sadogurska.katya@mail.ru.
Садогурська К. В.

Надійшла до редакції 15.09.2015 р.