

УДК 616.61-099-091-092.9:[546.57:544.777

*Л.І. Власик,**Н.Й. Андрійчук,**І.С. Давиденко*Буковинський державний медичний
університет, м. ЧернівціОСОБЛИВОСТІ ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ
ЗМІН У ВНУТРІШНІХ ОРГАНАХ ЩУРІВ
УНАСЛІДОК ПІДГОСТРОГО ВПЛИВУ
СРІБНИХ НАНОДЕКАЕДРІВ**Ключові слова:** наночастинки
срібла, патогістологічні
зміни, дозозалежність.**Резюме.** Проведена оцінка гістопатологічних змін у внутрішніх органах піддослідних тварин, що виникли внаслідок внутрішньоочеревинного введення розчину наночастинок срібла декаедричної форми упродовж 14 днів. В результаті експерименту відмічено дозозалежне оборотне набухання епітелію звивистих каналців нирок, гепатоцитів, ядер кардіоміоцитів, альтерацію епітелію бронхів різного калібру, повнокрів'я кровоносних судин у стінках респіраторних відділів легень, каріопікноз у нейронах кіркової речовини мозку. При чому, при введенні дози 1 мг/кг маси тіла патоморфологічні зміни виявлено лише в нирках щурів.**Вступ**

Одним з найбільш популярних об'єктів досліджень серед наноматеріалів є наночастинки срібла (НЧС). Це пов'язано з активним використанням наносрібла у виробництві предметів широкого вжитку [1, 3]. Чисельні дослідження вказують, що токсичність срібла у формі наночастинок вище, ніж у вигляді суцільних фаз, у зв'язку із здатністю проникати в незміненому вигляді через клітинні бар'єри, а також через гематоенцефалічний бар'єр в центральну нервову систему, циркулювати і накопичуватися в органах і тканинах. НЧС синтезують різних форм: наносфери, нанопризми та нанодротинки. У літературі описані дослідження гострої, підгострої та субхронічної токсичності наносрібла сферичної форми різних розмірів, введеного щурам, мишам або морським свинкам ін'єкційно, внутрішньошлунково, внутрішньоочеревинно, трансдермально та інгаляційно [1]. Виявлено розмірною залежну [9], дозозалежну [6,10, 11] та статевозалежну [5, 7,8] кумуляцію срібла в тканинах внутрішніх органів щурів та мишей [4].

Незважаючи на широке застосування наносрібла в побуті, медицині та багатьох сферах промисловості, дослідження їх безпечності відстає в часі, бракує інформації щодо шкідливого впливу наночастинок срібла декаедричної форми.

Мета дослідження

Провести оцінку гістопатологічних змін у внутрішніх органах піддослідних тварин, що виникли внаслідок підгострого впливу *in vivo* НЧС декаедричної форми, отриманих методом фотостимульованого синтезу.

Матеріали і методи

Досліди проводили на 40 статевозрілих щурах з дотриманням вимог біоетики, відповідно до "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2011), які узгоджені з положенням Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з дослідницькими та іншими цілями (Страсбург, 1986). Евтаназія тварин здійснювалася згідно з діючими рекомендаціями та етичними стандартами у стані наркозу згідно до закону України № 3447-1 від 21.02.2006 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження".

Чотирьом групам тварин (по 8 щурів у кожній) щоденно протягом 14 днів внутрішньоочеревинно вводили розчин НЧС в концентраціях 10, 5, 1 та 0,1 мг/кг. П'ята група - біологічний контроль. На 14 день тварин було виведено з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

Наносрібло отримували шляхом хімічного відновлення іонів Ag^+ натрій боргідридом у присутності натрію цитрату та поліакрилової кислоти, далі здійснювали фотохімічний вплив матрицею світлодіодів з довжиною хвилі 470 нм [4]. Дослідження просвічуваної електронної мікроскопії показали, що отримані наноматеріали мають структуру пласких декаедрів з поперечним діаметром близько 45 нм та висотою 30-40 нм. Як стабілізатор використовували полівінілпіролідон.

Для світлооптичного дослідження при гістологічному дослідженні біоптати тканин серця, нирки, печінки, легень, головного мозку фіксували у 10% нейтральному формаліні. Парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином.

Обговорення результатів дослідження

Проведені патоморфологічні дослідження внутрішніх органів піддослідних тварин 4-ї (за дози 0,1 мг/кг) та 5-ї груп (контроль) свідчать про відсутність патологічних змін. В органах тварин 3-ї групи помітні слабо виражені зміни лише з

боку нирок. Водночас відмічені виражені дозозалежні зміни у внутрішніх органах тварин 1-ї (за дози 10 мг/кг) та 2-ї (5 мг/кг) груп, а саме в нирках, серці, печінці, легенях та головному мозку (табл. 1).

При патоморфологічному дослідженні вияв-

Таблиця 1**Кількісна патоморфологічна оцінка шкідливого впливу срібних нанодекандрів у щурів**

Доза НЧС, мг/кг	Нирки ¹	Печінка ²	Серце ³	Легені ⁴	Легені ⁵	Головний мозок ⁶
0,1	змін не виявлено	змін не виявлено	змін не виявлено	змін не виявлено	змін не виявлено	змін не виявлено
1	54,0±1,6%	змін не виявлено	змін не виявлено	змін не виявлено	змін не виявлено	змін не виявлено
5	90,0±1,3%	63,0±2,6%	16,0±1,1%	96,0±0,9%	80,0±3,6%	17,0±1,8%
10	92,0±0,9%	64,0±2,4%	22,0±1,2%	98,0±0,8%	84,0±3,7%	18,0±1,9%

Примітки:

1. Поширеність оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок, %
2. Поширеність оборотного набухання гепатоцитів, %
3. Поширеність набухання ядер кардіоміоцитів, %
4. Поширеність альтерація епітелію бронхів різного калібру, %
5. Поширеність повнокрів'я кровоносних судин в стінках респіраторних відділів легень, %
6. Поширеність каріопікнозу в нейронах кіркової речовини, %

лені дозозалежні зміни у нирках тварин 1-ї, 2-ї та 3-ї груп. Негативний вплив НЧС на ниркову тканину характеризується оборотним набуханням епітелію звивистих каналців. Це виражалось у тому, що поширеність оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок тварин 2-ї групи сягнула 90%, а 1-ї (за введення максимальної

доза) - на 2% більше (у т.ч. - гідропічне набухання 54±1,4% та 40±1,0%, гідропічна вакуолізація 36±1,4% та 52±1,0%) відповідно (рис. 1). У кірковій речовині нирок тварин 3-ї групи помітні менш виражені зміни: поширеність оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок зменшується майже вдвічі (у т.ч. - гідропічне

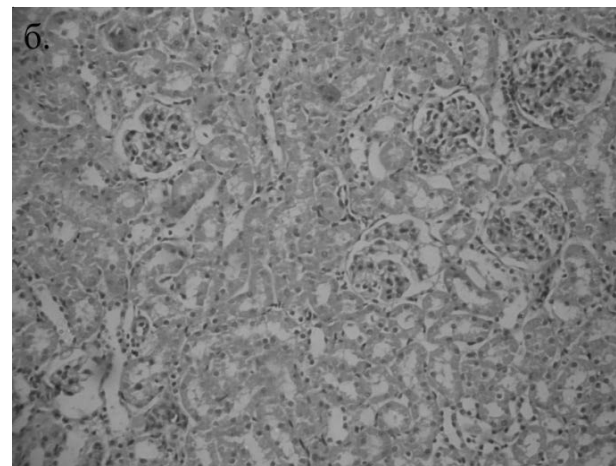
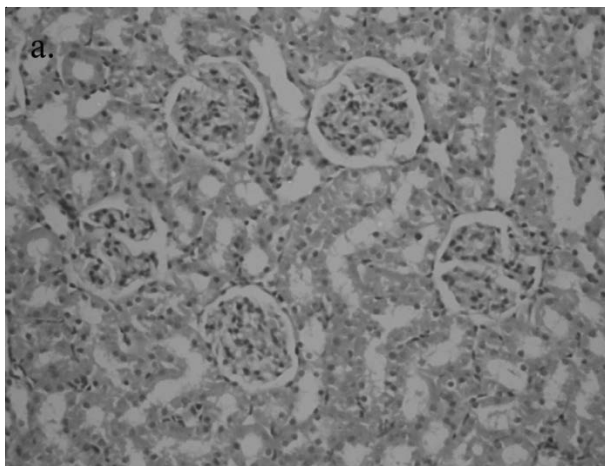


Рис. 1 (а.) та 2 (б.) група дослідження. Нирка щура. Мікрофотографія. Забарвлення

гематоксиліном і еозином. Об.20х. Ок.10х

набухання 48±1,8%, гідропічна вакуолізація 6±1,8%). У ниркових клубочках, мозковій речовині та сосочку нирки у тварин жодної з груп морфологічних змін не виявлено.

Дослідження тканини печінки вказує на пошкодження органа у тварин 1-ї та 2-ї груп. Виявлено оборотне набухання гепатоцитів, в основному у вигляді гідропічного набухання з поши-

реністю понад 60% (рис. 2). Мало місце інтенсивне злушення ендотелію з денудацією поверхні кровоносних судин в портальних трактах та центральних венах. У 6±0,8% (1 група) та 5±0,9% (2 група) гепатоцитів відмічалися явища каріопікнозу, як прояву некротичних змін цих клітин.

Негативний дозозалежний вплив розчину НЧС на міокард виявлено при патогістологічному дос-

лідженні серця щурів 2-ї та 1-ї (рис. 3) груп, що характеризується набуханням ядер кардіоміоцитів з поширеністю 16-22% відповідно. Крім цього спостерігалось інтенсивне злушення ендотелію з денудацією поверхні кровоносних судин міокарда.

При забарвленні гематоксиліном і еозином зразків легень піддослідних тварин відмічена

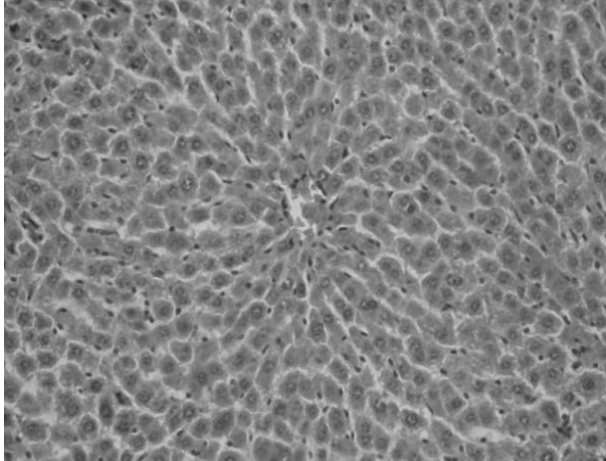


Рис. 2. I група досліджень. Печінка щура. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20х. Ок.10х

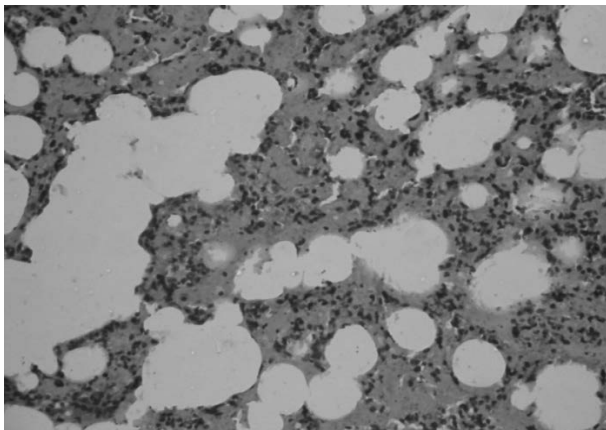


Рис. 4. I група досліджень. Легені щура. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20х. Ок.10х

Токсична дія НЧС виявлена і при патогістологічному дослідженні головного мозку тварин. Так, у щурів 2-ї та 1-ї груп спостерігався виражений спазм артеріол з розвитком періартеріолярного набряку. У нейронах кіркової речовини відмічався каріопікноз із поширенням на 17-18% нейронів відповідно.

Висновки

1. Внутрішньочеревне введення щурам упродовж 14 днів срібних нанодекандрів розміром 45 нм супроводжується дозозалежним оборотним набуханням епітелію звивистих каналців нирок, гепатоцитів, ядер кардіоміоцитів, альтерацією

альтерацією епітелію бронхів різного калібру у вигляді дистрофії або некрозу у щурів 1-ї (рис.4) та 2-ї груп. При чому, альтерація поширювалася на 98% епітеліоцитів бронхів у тварин 1-ї групи, на 2% менше у тварин 2-ї групи. Крім цього, у стінках респіраторних відділів легень відмічалось виражене повнокров'я кровоносних судин, яке сягало 84% у тварин 1-ї групи та із зниженням дози НЧС зменшувалося на 4% у тварин 2-ї групи.

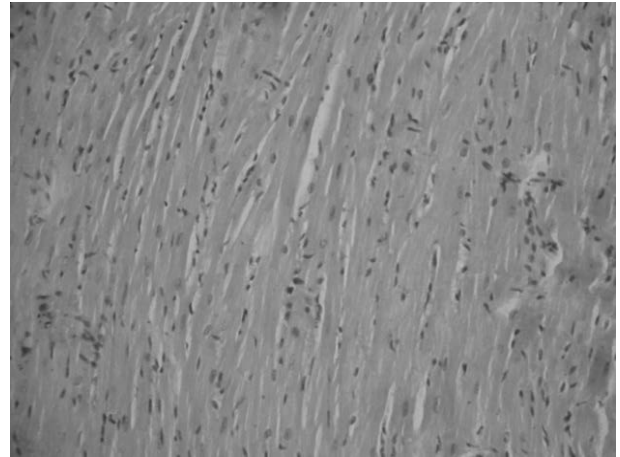


Рис. 3. I група досліджень. Серце щура. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20х. Ок.10х

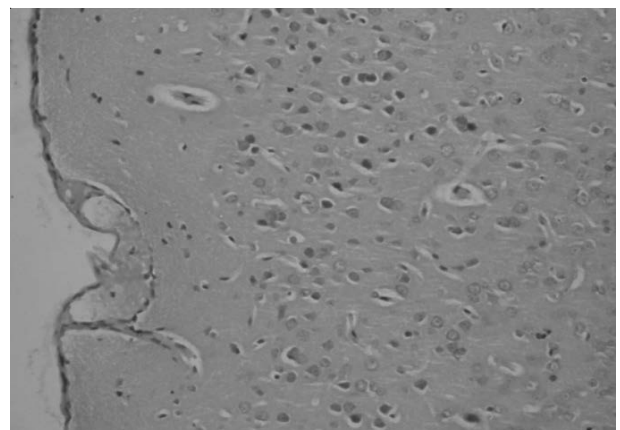


Рис. 5. I група досліджень. Головний мозок щура. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20х. Ок.10х

епітелію бронхів різного калібру, повнокров'ям кровоносних судин у стінках респіраторних відділів легень, каріопікнозом у нейронах кіркової речовини мозку.

2. При введенні дози 1 мг/кг маси тіла патоморфологічні зміни виявлено тільки в нирках.

Перспективи подальших досліджень

Одержані дані щодо впливу НЧС на внутрішні органи обґрунтовують необхідність проведення подальших наукових досліджень токсичної дії НЧС різної форми, а також пошуку шляхів нейтралізації їх негативного впливу на організм.

Література. 1. Бойчук Т.М. До проблеми оцінки

токсичності наночастинок срібла / Т. М. Бойчук, Н. Й. Андрійчук, Л. І. Власик // Клініч. та експерим. патол. - 2012. - Т. XI, №4(42). - С. 151-158. 2. Іліка А.І. Фотостимульоване відновлення йонів Аргентуму з утворенням декадричних наночастинок / А.І. Іліка, І.А. Чікірка, Ю.Б. Халавка // Науковий вісник Чернівецького університету. - 2011. - Вип. 555.: Хімія. - С. 40-43. 3. Проданчук Н.Г. Нанотоксикологія: состояние и перспективы исследований / Н. Г. Проданчук, Г.М. Балан // Современные проблемы токсикологии. - 2009. - № 3-4. - С. 4-20. 4. Acute toxic effects and gender-related biokinetics of silver nanoparticles following an intravenous injection in mice / Y. Xue, S. Zhang, Y. Huangal. // Journal of Applied Toxicology. - 2012. - № 32. - P. 890-899. 5. In vivo Genotoxicity of Silver Nanoparticles after 90-day Silver Nanoparticle Inhalation Exposure / J. S. Kim, J. H. Sung, J. H. Ji // Safety and Health at Work. - 2011. - Vol. 2. - P. 34-38. 6. Lung Function Changes in Sprague-Dawley Rats After Prolonged Inhalation Exposure to Silver Nanoparticles / J. H. Sung, J. H. Ji, J. U. Yun et al. // Inhalation Toxicology. - 2008. - Vol. 20. - P. 567-574. 7. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles / J. H. Jung, J. H. Ji, J. D. Park [et al.] // Toxicological Science. - 2009. - Vol. 108 (2). - P. 452-461. 8. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles / Y. S. Kim, M. Y. Song, J. D. Park [et al.] // Particle and Fibre Toxicology. - 2010. - Vol. 7 (20). - P. 1-12. 9. The kinetics of the tissue distribution of silver nanoparticles of different sizes / D. P. K. Lankveld, A. G. Oomen, P. Krystek [et al.] // Biomaterials. - 2010. - No 31. - P. 8350-8361. 10. Twenty-Eight-Day Inhalation Toxicity Study of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats / Jun Ho Ji, Jae Hee Jung, Sang Soo Kim [et al.] // Inhalation Toxicology. - 2007. - No. 19. - P. 857-871. 11. Twenty-Eight-Day Oral Toxicity, Genotoxicity, and Gender-Related Tissue Distribution of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats / Y. S. Kim, J. S. Kim, H. S. Cho [et al.] // Inhalation Toxicology. - 2008. - Vol. 20. - P. 575-583.

ОСОБЕННОСТИ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ КРЫС ВСЛЕДСТВИЕ ПОДОСТРОГО ВЛИЯНИЯ СЕРЕБРЯННЫХ НАНОДЕКАЭДРОВ

Л.И. Власык, Н.Й. Андрійчук, І.С. Давыденко

Резюме. Проведена оценка гистопатологических изменений в внутренних органах подопытных животных, возникших вследствие внутрибрюшинного введения раствора наночастиц серебра в форме декаэдра на протяжении 14 дней. В результате эксперимента отмечено дозозависимое обратное набухание эпителия извилистых канальцев почек, гепатоцитов, ядер кардиомиоцитов, альтерацию эпителия

bronхов разного калибра, полнокровие кровеносных сосудов в стенках респираторных отделов легких, карнопикноз в нейронах коркового вещества мозга. При чем, при введении дозы 1 мг/кг массы тела патоморфологические изменения обнаружено только в почках крыс.

Ключевые слова: наночастицы серебра, патоморфологические изменения, дозозависимость.

PECULIARITIES OF PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN INTERNAL ORGANS OF RATS AS A RESULT OF SUBACUTE EFFECT OF SILVER NANODECAHEDRONS

L.I. Vlasyk, N.J. Andriychuk, I.S. Davydenko

Abstract. The properties of nanoparticles that effect toxicity include: chemical composition, size, solubility, shape, surface area, surface charge and so on. Almost all toxicological experiments dealing with nanoparticles describe the total ingested, inhaled or dermally applied dose of spherical silver nanoparticles. Current in vivo studies have shown that it was detected the shape-, dose- and gender-related accumulation of silver in tissues of internal organs of rats. Despite the importance of silver nanoparticles in consumer products and clinical applications, relatively little is known regarding nanosilver toxicity and its associated risks, especially it regards to decahedron-shape silver nanoparticles. That is why the assessment of pathomorphological changes in internal organs of experimental animals due to fourteen-day intraperitoneal injections of decahedron-shape silver nanoparticles was carried out. As the result of the experiment it was observed the dose-related reverse swelling of the epithelium of kidney's convoluted tubules, hepatocytus, cardiac hystiocytus nucleus, alteration of the epithelium of bronchi, plethora of blood vessels of lung's respiratory parts, neurons cariopicnosis of cortical substance of the brain. Moreover, pathomorphological changes were found only in rat kidneys at introduction of 1 mg/kg dose.

Key words: silver nanoparticles, pathomorphological changes, dose-relation.

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi

Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol. 13, №3 (49). - P. 33-36.

Надійшла до редакції 01.08.2014

Рецензент – проф.

© Л.І. Власик, Н.Й. Андрійчук, І.С. Давыденко, 2014