

МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ РЕОРГАНИЗАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭНТЕРАЛЬНОМ СПОСОБЕ ВВЕДЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ ТИПА CU10X

Комплексные экспериментальные исследования по изменению структуры и функции печени при энтеральном введении наночастиц металлов-микроэлементов на примере модифицированных наночастиц меди проведены для установления основных критериев безопасности введения наночастиц металлов в организм животных с целью решения вопроса о возможности использования наночастиц металлов-микроэлементов для создания препаратов, обладающих полифункциональным и пролонгированным действием.

Ключевые слова: печень, наночастицы, иммуногистохимия, химические элементы.

Резкое увеличение объемов производства искусственных наноматериалов привело к значительному их поступлению в окружающую среду, к накоплению в компонентах биоты с последующей возможной передачей человеку. Поэтому возникает острая необходимость изучения последствий действия наноразмерных веществ на животных и человека. Анализ мировой литературы свидетельствует о начальном этапе исследования влияния наночастиц на структурно-функциональную реорганизацию и диапазон органотипических потенциалов органов животных, рассматриваемых как один из наиболее важных критериев безопасности введения металлов-микроэлементов в форме наночастиц, использование которых перспективно при решении различных задач. В настоящее время имеются единичные работы по влиянию углеродных нанотрубок на состояние легочной ткани [1], исследования влияния раствора нанопорошка Fe_3O_4 на структуру печени, почек, легкого крыс при внутривенном его введении [2,3]. Печень, выполняющая более пятисот функций в организме, является главным органом биотрансформации и мишенью веществ, поступающих из внешней среды. Поэтому изучение ее структурно-функциональной реорганизации при введении в рацион наночастиц металлов-микроэлементов является актуальным.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 60-ти белых крысах-самцах линии Вистар массой 150–180 г, которым на протяжении 3 дней выпаивали суспензию наночастиц меди типа Cu10x в дозе 2,0 мг/кг массы животного. Наночастицы меди типа Cu10x представляют собой сферические частицы размером $103,0 \pm 2,0$ нм с оксидной

пленкой толщиной 6 нм. Методом рентгенофазового анализа определен их состав: меди кристаллической 96%, меди оксида 4% [4, 5]. Убой животных проводили путем декапитации под нембуталовым наркозом по следующей схеме: через 1, 2 часа и трое суток после введения. Вводили суспензию 1 раз в сутки энтеральным путем. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду и убой проводили в те же сроки. Для выявления экзогенной меди в фиксированных гистосрезах применяли метод с бензидином, который был нами модифицирован (экспериментально подобраны срок инкубации препаратов в среде, содержащей солянокислый бензидин, тиацианат аммония, и температурный режим), что позволило выявить наночастицы меди в исследуемых органах. Иммуногистохимические исследования проводили на парафиновых срезах при помощи моноклональных антител (Ki-67, Caspase-3, Bcl-2) и системы визуализации фирмы Bio Genex Super Sensytive Detection System, США. Производили подсчет иммунопозитивных клеток на 1000 и выражали в %. В ходе проведения эксперимента соблюдались правила проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ №755 от 12.08.1977 МЗ СССР).

Результаты и их обсуждение

При энтеральном поступлении наночастиц в организм животных через 1 час после их введения в желудке выявляется очаговое повреждение покровного эпителия, наночастицы меди обнаруживаются в виде гомогенного серо-синего окрашивания в базальной части париетальных клеток и в виде темно-синих зерен в соединительной ткани собственной пластинки сли-

зистой оболочки в проекции повреждения покровного эпителия (рис. 1).

Через 2 часа после введения наночастиц меди признаков повреждения покровного эпителия желудка нет, но в собственной пластинке слизистой обнаруживается небольшое содержание наночастиц меди (рис. 2).

В стенке тощей кишки через 2 часа после энтерального введения наночастиц меди выраженных структурных изменений не обнаруживается, что, вероятно, связано с их активным всасыванием в слизистой оболочке желудка. Наночастицы меди в стенке тощей кишки не обнаруживаются. При повторном энтеральном введении наночастиц в стенке желудка наряду с появлением локальных участков повреждения поверхностного эпителия и дистрофическими изменениями главных клеток в теле фундальных желез увеличивается щеечная часть желез, содержащая клетки, являющиеся источником регенерации покровного эпителия желудка и желез (рис. 3). Это подтверждает способность пограничных тканей, сформировавшуюся в ходе филогенеза, к активной регенерации и большей устойчивости к повреждающим воздействиям.

При энтеральном пути поступления наночастиц меди в печени уже через 2 часа обнаруживаются признаки гидропической дистрофии в гепатоцитах перипортальной зоны (рис. 4). В гепатоцитах наночастицы не выявлялись, они обнаруживались только в клетках Купфера.

Обнаруженные в печени структурные изменения через 2 часа после энтерального введения наночастиц носят обратимый характер, о чем свидетельствует неизменная структура печени на третьи сутки после введения. При исследовании печени на третьи сутки после энтерального введения наночастиц они обнаруживаются в клетках Купфера и васкулярной зоне гепатоцитов, признаки дистрофии в клетках отсутствуют. Готовность клеток к апоптозу на третьи сутки после энтерального введения недостоверно отличается от показателей экспрессии маркеров апоптоза в печени контрольной группы животных.

Ожидая большего повреждающего действия наночастиц меди на структуру печени при энтеральном пути введения, мы получили противоположные морфологические факты, требующие дальнейшего исследования: либо это результат изменения наночастиц в желудочно-кишечном тракте, либо включения защитно-приспособительных реакций в органе, обеспечивающих биохимический гомеостаз в гепато-

цитах, выявляемых на субмикроскопическом уровне.

При изучении минерального состава установлено, что печень – наиболее лабильный и отзывчивый орган на введение наночастиц и амплитуда колебания уровня химических элементов здесь значительно выше. В печени выраженной амплитудой колебания обладают все микроэлементы по сравнению с макроэлементами. Происходят волнообразные изменения показателей концентрации меди: через час – увеличение, а затем спад на третьи сутки после

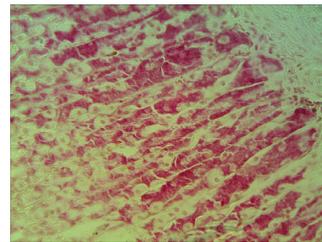


Рисунок 1. Желудок крыс через 1 час после введения. Повреждения покровного эпителия. Микрофото: окраска – солянокислый бензидин, ок. 15, об. 20.

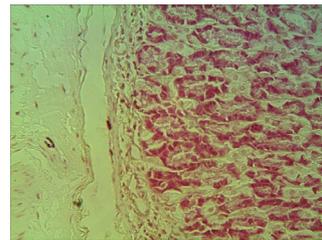


Рисунок 2. Желудок крыс через 2 часа после введения. Микрофото: окраска – солянокислый бензидин, ок. 15, об. 20.

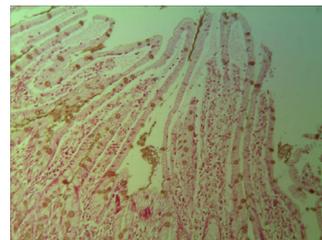


Рисунок 3. Тощая кишка крыс через 3 суток после введения. Микрофото: окраска – солянокислый бензидин, ок. 15, об. 20.

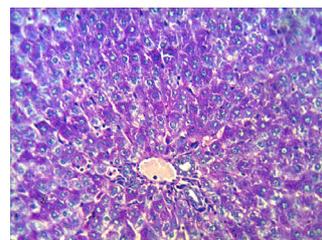


Рисунок 4. Печень крыс через 2 часа после введения. ШИК – реакция. Микрофото: ок. 15, об. 20.

введения и последующее незначительное увеличение. Это говорит о том, что система гомеостатического регулирования уровня микроэлементов в организме справляется с увеличенной нагрузкой металла на организм, и видимых нарушений ни с одним из изученных элементов не происходит, т. е. в изученных тканях нет накопления ни одного из элементов и самой меди. Наблюдаются фазовые колебания содержания изученных элементов. Ответ других микроэлементов через час выражался в увеличении концентрации Fe, Ni, V, на фоне снижения Cd, Pb. Через 2 часа – увеличивалась концентрация Si, Ni, V, при снижении I, Cd, Pb. На третьи сутки – увеличивалась концентрация As, B, Co, Cu, Fe, Li, Mn, V, на фоне снижения Cr, I, Se, K, Pb.

Таким образом, при введении наночастиц

меняется структурно-функциональная картина и концентрация минеральных веществ печени. Становится ясно, что при введении биотических доз наночастиц, а зона биотического действия наночастиц меди лежит вплоть до 15 мг/кг массы животных не происходит необратимых изменений в изученных регуляторных системах: системе регуляции пролиферации клеток ткани и системе гомеостатического регулирования уровня элементов. Выявленные морфологические факты: минимальное повреждающее влияние наночастиц меди в зоне введения (стенка желудка и тощей кишки), выявленная иммуногистохимически меньшая готовность клеток печени к запрограммированной клеточной гибели, позволяют сделать вывод, что энтеральный путь введения является корректным.

Список использованной литературы:

1. Kagan V.E., Tyurina Y.Y., Konduru N.V., et. al. / Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages // *Toxicol. letters* – 2006 – p. 1-13.
2. Мильто И.В., Дзюман А.Н. Структура печени, легкого и почек крыс при внутривенном введении магнитолипосом // *Морфология*, 2009, т. 135, №3, с. 63-66.
3. Арсентьева И.П., Зотова Е.С., Арсентьев А.А., Глущенко Н.Н., Байтукалов Т.А., Фолманис Г.Э. Использование биологически активных нанопорошков на основе магния и железа в сельском хозяйстве и медицине // *Материалы VIII Всероссийской конференции «Физикохимия ультрадисперсных (нано) систем»*. (10-14 ноября 2008 г. Белгород). М.МИФИ с. 258-260.
4. Байтукалов Т.А., Глущенко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. Изучение воздействия наночастиц железа на содержание гидропироксидов в липидах печени в процессе регенерации кожи после нанесения экспериментальных полнослойных ран // *Сборник научных трудов II Всероссийской научной конференции «Физико-химические и прикладные проблемы магнитных дисперсных наносистем»*. – Ставрополь, 2009 г. – С. 276.
5. Богословская О.А., Сизова Е.А., Полякова В.С., Мирошников С.А., Лейпунский И.О., Ольховская И.П., Глущенко Н.Н. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных // *Вестник ОГУ*, 2009, №2, с 124-128.

**Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований
№08-04-13544 – офи_ц.**

Сведения об авторе: Сизова Елена Анатольевна, доцент кафедры общей биологии Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук 460018, г. Оренбург, пр=т Победы, 13, корп. 16, e-mail: Sizova.L78@yandex.ru

Sizova E.A.

Mineral composition and morphofunctional aspects of hepar reorganization under intrajejunal administration of copper nanoparticles type cu10x

The article covers comprehensive analysis over changes in structure and function of hepar under intrajejunal administration of nanoparticles of metals-microelements by the example of modified copper nanoparticles in order to determine basic criterion for safety in the course of metal nanoparticles introduction in the organism of an animal aimed at coming to a conclusion of possibility of using nanoparticles of metals-microelements in creating preparations with polyfunctional and extended effect.

Key words: hepar, nanoparticles, immunohistochemistry, chemical elements.