

УДК 636.028:591.43.436:591.8:636.087.72

## МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ РЕОРГАНИЗАЦИИ ТКАНЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА, ПЕЧЕНИ, БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФОУЗЛОВ ПРИ ЭНТЕРАЛЬНОМ СПОСОБЕ ВВЕДЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ ТИПА $Cu10x$

*Сизова Е.А.(1), Лебедев С.В.(1), Глущенко Н.Н.(2)*

*Оренбургский государственный университет*

*Orenburg state university*

*Институт энергетических проблем химической физики*

*РАН, Москва Institute of energetic problems of chemical*

*physics, Russian academy of science, Moscow*

*Morphofunctional study reorganizatstsiya liver and its mineral composition for intramuscular injection nanoastits copper, for further use of nanoparticles of metals, trace elements in the creation of veterinary drugs with polyfunctional and prolonged action.*

Анализ 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 сельскохозяйственного производства. В настоящее время имеются единичные работы, по влиянию углеродных нанотрубок на состояние легочной ткани [1], исследовавших влияние раствора нанопорошка  $Fe_3O_4$  на структуру печени, почек, легкого крыс при внутривенном его введении [2, 3, 4]. Комплексные экспериментальные исследования по изменению структуры и функции печени при 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 ветеринарных препаратов, обладающих полифункциональным и пролонгированным действием.

### **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% [5]. Убой животных проводили путем декапитации под нембуталовым наркозом по следующей схеме: через 1, 2 часа после первого введения, и в те же сроки после второго и третьего введений. 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 гистосрезях применяли метод с бензидином, который был нами модифицирован (экспериментально подобран срок инкубации препаратов в среде, содержащей солянокислый бензидин и тиацианат аммония, и температурный режим), что

позволило выявить наночастицы меди в исследуемых органах. В ходе проведения эксперимента соблюдались правила проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ №755 от 12.08.1977 МЗ СССР).

Для световой микроскопии парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином Майера-эозином. Иммуногистохимические исследования проводили на парафиновых срезах при помощи моноклональных антител (Ki-67, Caspase-3, Bcl-2) и системы визуализации фирмы Bio Genex Super Sensitive Detection System, США. Производили подсчет иммунопозитивных клеток на 1000 и выражали в %.

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 слизистой оболочки в проекции повреждения покровного эпителия. Через 2 часа после введения наночастиц меди признаков повреждения покровного эпителия желудка нет, но в собственной пластинке слизистой обнаруживаются небольшое содержание наночастиц меди. В стенке тощей кишки через 2 часа после энтерального введения наночастиц меди каких либо 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 щечная часть желез, содержащая клетки, являющиеся источником регенерации покровного эпителия желудка и желез. 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. 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 3 сутки после введения. При исследовании печени через 2 часа после третьего энтерального введения наночастиц они обнаруживаются в клетках Купфера и васкулярной зоне гепатоцитов, признаки дистрофии в клетках отсутствует. Готовность клеток к апоптозу после трехкратного энтерального введения достоверно отличается от показателей экспрессии маркеров апоптоза в печени контрольной группы животных. Ожидая большее повреждающее действие 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 гепатоцитах, выявляемых на субмикроскопическом уровне.

В брыжеечных лимфатических узлах при энтеральном введении наночастицы меди не обнаруживаются. Достоверные различия с контролем

обнаруживаются после третьего введения наночастиц. Относительная объемная плотность лимфоидных фолликулов и их реактивных центров у экспериментальной группы животных по сравнению с контролем увеличивается в 2,5 раза ( $P < 0,05$ ). В селезенке при энтеральном введении наночастиц последние выявляются в макрофагах на 3 сутки после введения.

Таким образом, 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.

#### Литература:

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.