

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

## ОСОБЛИВОСТІ ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН У НИРКАХ ЩУРІВ ВНАСЛІДОК ПІДГОСТРОГО ВПЛИВУ СРІБНИХ НАНОДЕКАЕДРІВ

**Власик Л.І.<sup>1,2</sup>, Андрійчук Н.Й.<sup>1</sup>**

*Кафедра гігієни та екології*

*Буковинський державний медичний університет<sup>1</sup>; nadin\_ua@mail.ru*

*Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки*

*імені академіка Л.І.Медведя<sup>1,2</sup>*

Проведена оцінка гістопатологічних змін у нирках піддослідних тварин, що виникли внаслідок внутрішньочеревинного введення розчину наночастинок срібла (НЧС) декаедричної форми упродовж 14 днів. В результаті експерименту відмічено дозозалежне оборотне набухання епітелію звивистих канальців нирок, виявлено статеву залежність дистрофічних змін у кірковій речовині нирок щурів, а саме, поширеність оборотного набухання епітелію звивистих канальців нирок у самок більша, ніж у самців. Мінімальною дозою НЧС, за якої з'являються патоморфологічні зміни в нирковій тканині щурів, є доза 1 мг/кг маси тіла.

**Ключові слова:** *наночастинки срібла, патогістологічні зміни, дозозалежність, статева залежність.*

### Вступ

Підвищений інтерес дослідників до наночастинок срібла (НЧС) пов'язаний із виявленням в них незвичайних фізичних та хімічних властивостей, особливостями біологічної дії, які часто радикально відрізняються від властивостей тієї ж речовини в формі суцільних фаз чи макроскопічних дисперсій. НЧС мають надзвичайно велику питому площу поверхні, що збільшує площу контакту срібла з бактеріями або вірусами, значно покращуючи його бактерицидну дію. Це дозволяє в сотні разів знизити концентрацію срібла із збереженням всіх його бактерицидних властивостей. Наносрібло застосовують для надання антимікробних, антисептичних властивостей різним поверхням і матеріалам, зокрема предметам побутового вжитку (посуд, постіль, підгузки, матраци, лако-фарбові засоби, системи кондиціонування повітря, пральні машини), косметичним засобам (креми, шампуні, фарба для волосся), системам очистки питної води та води в басейнах, упаковкам для харчових продуктів, шовним та перев'язувальним матеріалам у медицині [1, 6].

Аналіз даних літератури свідчить, що НЧС, порівняно зі звичайними мікрочастками, володіють не тільки більш вираженою фармакологічною активністю і токсичністю, здатні проникати в незміненому вигляді через клітинні бар'єри, через гематоенцефалічний бар'єр у центральну нервову систему, циркулювати і накопичуватися в органах і тканинах, викликаючи більш виражені патоморфологічні зміни у внутрішніх органах, а також мають тривалий період напіввиведення [4].

В літературі описані дослідження гострої, підгострої та субхронічної токсичності наносрібла сферичної форми різних розмірів, введеного щурам, мишам або морським свинкам ін'єкційно, внутрішньо-ошлунково, внутрішньоочеревинно, трансдермально та інгаляційно [1]. Виявлено розмірнозалежну [11], дозозалежну [7, 8, 9, 12] та статевозалежну кумуляцію срібла в тканинах внутрішніх органів щурів та мишей [3], відмінність в розподілі НЧС у нирках, а саме концентрація НЧС сферичної форми більша в нирках щурів та мишей жіночої статі, аніж у самців [6, 10, 13].

Токсичність наночастинок залежить від їх форм та розмірів. Так дрібні наночастини веретеноподібної форми викликають більш руйнівні ефекти в організмі, ніж подібні їм частки сферичної форми. Також при впливі НЧС на організм чітко простежується зв'язок «доза – ефект» [6]. Маловивченою формою наносрібла є нанодокаедр.

**Метою дослідження** було проведення оцінки гістопатологічних змін у нирках піддослідних тварин, що виникли внаслідок підгострого впливу *in vivo* НЧС декаедричної форми, отриманих методом фотостимульованого синтезу.

#### **Матеріали і методи**

Досліди проводили на 80 статевозрілих щурах обох статей 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 глибокого наркозу згідно до закону України № 3447-1 від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Чотирьом групам тварин (по 16 щурів в кожній, по 8 тварин в підгрупі – за статевою належністю) щоденно протягом 14 днів внутрішньоочередово 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<sup>+</sup> натрій боргідридом у присутності натрію цитрату та поліакрилової кислоти, далі здійснювали фотохімічний вплив матрицею світлодіодів з довжиною хвилі 470 нм [3]. Дослідження просвічу вальної електронної мікроскопії показали, що отримані наноматеріали мають структуру пласких дека-

едрів з поперечним діаметром близько 45 нм та висотою 30-40 нм. В якості стабілізатора використовували полівінілпіролідон.

Для світлооптичного дослідження при гістологічному дослідженні біоптати тканини нирки фіксували у 10 % нейтральному формаліні. Парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином.

#### **Результати дослідження**

Проведені патоморфологічні дослідження препаратів нирок піддослідних тварин 4 (за дози розчину НЧС 0,1 мг/кг) та 5 груп (контроль) свідчать про відсутність будь-яких патологічних змін, які встановлювали в результаті забарвлення гістологічних зрізів гематоксиліном і еозином.

При патоморфологічному дослідженні виявлені дозозалежні дистрофічні зміни у кірковій речовині нирок тварин 1 (за дози 10 мг/кг), 2 (5 мг/кг) та 3 (1 мг/кг) груп. Негативний вплив НЧС на ниркову тканину характеризувався оборотним набуханням епітелію звивистих каналців. Крім цього, помічена і статева відмінність у поширеності патоморфологічних уражень у кірковій речовині нирок щурів. У ниркових клубочках, мозковій речовині та сосочку нирки у тварин жодної з груп морфологічних змін не виявлено.

Огляд препаратів нирки щурів 1 групи, яким вводилася найбільша доза розчину НЧС, вказує на виражену токсичну дію срібних нанодокаедрів (рис. 1). Це виявлялося у тому, що поширеність оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок у самок сягала 98 %, у самців на 6 % менше. При цьому, гідропічна вакуолізація сягала 62 % в препаратах нирок самок та 52 % у препаратах нирок самців.

Дослідження ниркової тканини піддослідних тварин 2-ої групи свідчить про практично аналогічне ураження ниркової тканини щурів, що і за введення максимальної дози. Огляд препаратів вказує на дистрофічні зміни у кірковій речовині нирок тварин. Так, поширеність оборотного

набухання епітелію звивистих каналців нирок у самок становила 96 %, у самців – на 6 % менше (рис. 2). При чому, явища

гідропічної вакуолізації домінували у препаратах самок, в порівнянні із явищами гідропічного набухання, які переважали у препаратах самців.

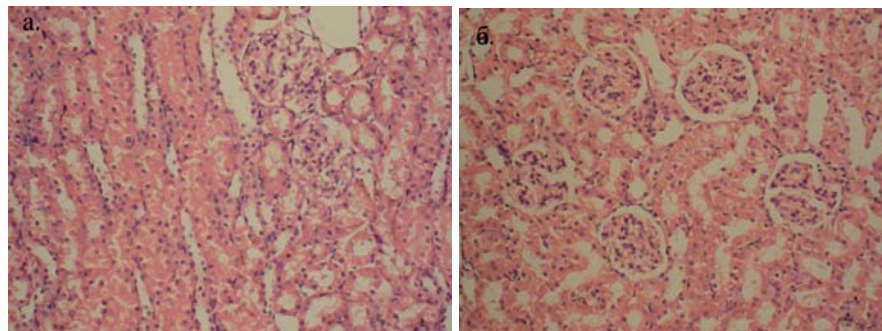


Рис. 1. 1 група дослідження. Нирка самки (а.) та самця (б.) щура. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>.

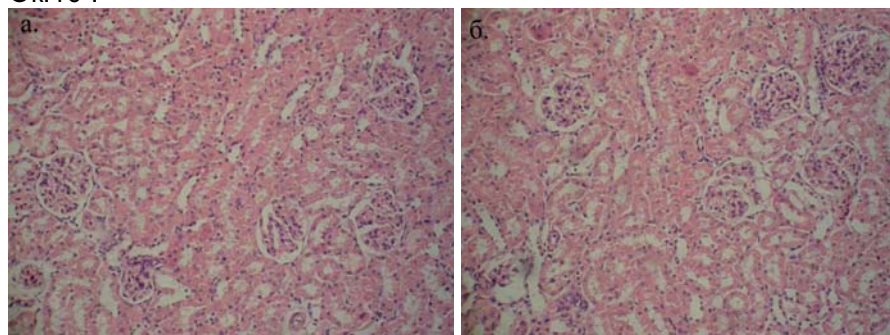


Рис. 2. 2 група дослідження. Нирка самки (а.) та самця (б.) щура. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>.

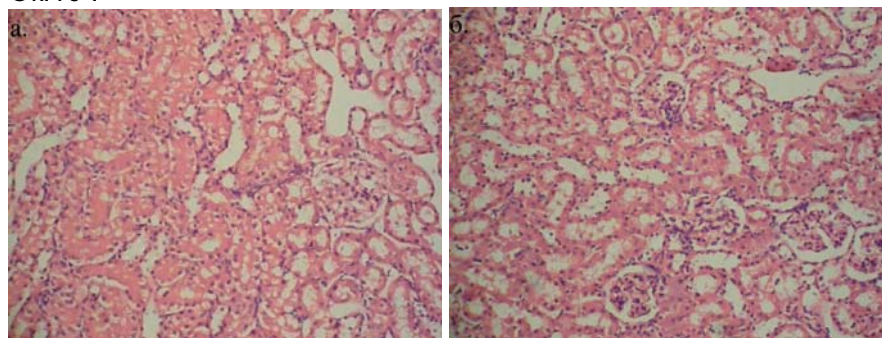


Рис. 3. 3 група дослідження. Нирка самки (а.) та самця (б.) щура. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>.

Токсична дія НЧС виявлена і при патогістологічному дослідженні препаратів нирки щурів 3 групи. В кірковій речовині нирок піддослідних тварин даної групи за введення срібних нанодіаєдрів у дозі 1 мг/кг маси тіла помітні менш виражені зміни. Крім цього, морфологічні дослідження зразків ниркової тканини вказують на більш виражену статеву залежність дистрофічних змін в нирках щурів. А саме, поширеність оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок у самок складала 66 %, а у самців – на 12 % менше (рис. 2). В тому числі, оцінка гідропічного набухання та гідропічної вакуолізації вказує на значне переважання гідропічного набухання в препаратах нирок щурів обох статей.

### Висновки

Таблиця 1 1.

Кількісна патоморфологічна оцінка шкідливого впливу срібних нанодіаєдрів на ниркову тканину щурів

Доза НЧС, мг/кг розчину	0,1		1		5		10	
	самки	самці	самки	самці	самки	самці	самки	самці
Поширеність оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок, %	-	-	66 ± 1,4	54 ± 1,6	96 ± 1,5	90 ± 1,3	98 ± 0,8	92 ± 0,9
Гідропічне набухання, %	-	-	60 ± 1,7	48 ± 1,8	46 ± 1,4	54 ± 1,4	36 ± 1,1	40 ± 1,0
Гідропічна вакуолізація, %	-	-	6 ± 1,7	6 ± 1,8	50 ± 1,4	36 ± 1,4	62 ± 1,1	52 ± 1,0

Внутрішньочеревне введення щурам упродовж 14 днів срібних нанодіаєдрів розміром 45 нм супроводжується дозозалежним оборотним набуханням епітелію звивистих каналців



- нирок.
- Мінімальною дозою НЧс декаедричної форми при внутрішньочеревинному введенні за якої з'являються патоморфологічні зміни в нирковій тканині є доза 1 мг/кг маси тіла.
  - При патоморфологічному дослідженні виявлено статеву залежність дистрофічних змін у кірковій речовині нирок щурів, а саме, поширеність оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок у самок на 6-12 % більша, ніж у самців внаслідок підготовчого впливу срібних нанодекаедрів.

### Література

- Бойчук Т.М. До проблеми оцінки токсичності наночастинок срібла / Т. М. Бойчук, Н. Й. Андрійчук, Л. І. Власик // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т. XI, №4(42). – С. 151-158.
- Проданчук Н.Г. Нанотоксикологія: состояние и перспективы исследований / Н. Г. Проданчук, Г.М. Балан // Современные проблемы токсикологии. – 2009. — № 3-4. – С. 4-20.
- Іліка А.І. Фотостимульоване відновлення іонів Аргентуму з утворенням декаедричних наночастинок / А.І. Іліка, І.А. Чікірка, Ю.Б. Халавка // Науковий вісник Чернівецького університету. — 2011. – Вип. 555.: Хімія. – С. 40-43.
- Медичне застосування наночастинок срібла: токсикологічний аспект / І. С. Чекаман, А. О. Прискока, В. Ф. Бабій та інш. // Современные проблемы токсикологии. – 2010. – № 4. – С. 10–13.
- Москаленко В. Ф. Екологічні і токсиколого-гігієнічні аспекти біологічної безпеки нанотехнологій, наночастинок та наноматеріалів (аналітичний огляд) / В. Ф. Москаленко, О. П. Яворовський // Науковий вісник Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. – 2009. – № 3. – С. – 25–35
- Acute toxic effects and gender-related biokinetics of silver nanoparticles following an intravenous injection in mice / Y. Xue, S. Zhang, Y. Huang al. // Journal of Applied Toxicology. – 2012. — № 32. – P. 890-899.
- 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.

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

### References

- Boichuk T.M., Andriichuk N.J., Vlasyk L.I. 2012, "To an Evaluation of Toxicity of Silver Nanoparticles", Clinical and Experimental Pathology Vol. XI, №4(42), pp. 151-158. (in Ukrainian)
- Prodanchuk M.G., Balan G.M. 2009, "Nanotoxicology: State and Investigation Perspectives", Modern Problems of Science and Education Vol. 3-4, pp. 4-20. (in Russian)
- Ilika A.I., Chikirika I.A., Khalavka Y.B. 2011. "Photochemical Reduction of Silver Ions Leads to the Formation of Decahedral Nanoparticles", Chernivtsi University Scientific Herald. Vol. 555.: Chemistry. pp. 40-43. (in Ukrainian)
- Chekman I.S. Priskoka A.O., Babiy V. F. 2010. "Medical application of silver nanoparticles: a toxicological aspect", Modern Problems of Toxicology. Vol 4. pp. 10–13. (in Ukrainian)
- Moscalenko V.F., Yavorovskiy O.P. 2009. "Ecological and Toxicological Aspects of Biological Safety of Nanotechnologies, Nanoparticles and Nanomaterials",

Bogomolets National Medical University Scientific Herald, Vol 3. pp. 25–35. (in Ukrainian)

6. Acute toxic effects and gender-related biokinetics of silver nanoparticles following an intravenous injection in mice / Y. Xue, S. Zhang, Y. Huang et al. // Journal of Applied Toxicology. – 2012. — № 32. – P. 890-899.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.

### Резюме

#### ОСОБЕННОСТИ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЧКАХ КРЫС ВСЛЕДСТВИЕ ПОДОСТРОГО ВЛИЯНИЯ СЕРЕБРЯННЫХ НАНОДЕКАЭДРОВ

*Власык Л.И., Андрийчук Н.И.*

Проведена оценка гистопатологических изменений в почках подопытных животных, возникших вследствие внутрибрюшинного введения раствора наночастиц

серебра (НЧС) в форме декаэдра на протяжении 14 дней. В результате эксперимента отмечено дозозависимое обратное набухание эпителия извилистых канальцев почек, выявлено половую зависимость дистрофических изменений в корковом веществе почек крыс, а именно, распространённость обратного набухания эпителия извилистых канальцев почек у самок больше, чем у самцов. Минимальной дозой НЧС, при которой появляются патоморфологические изменения в почечной ткани крыс, оказывается доза 1 мг/кг массы тела.

**Ключевые слова:** *наночастицы серебра, патогистологические изменения, дозозависимость, половая зависимость.*

### Abstract

#### PECULIARITIES OF PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN RATS KIDNEYS AS A RESULT OF SUBACUTE EFFECT OF SILVER NANODECAHEDRONS

*Vlasyk L.I., Andriychuk N.J.*

There was carried out the assessment of pathomorphological changes in kidneys of experimental animals as a result of fourteen-day intraperitoneal injections of decahedron-shape silver nanoparticles. Following the experiment it was observed the doserelated reverse swelling of the epithelium of kidney's convoluted tubules, detected genderrelated dystrophic alteration in cortical substance of rats kidneys, namely prevalence of reverse swelling of the epithelium of kidneys convoluted tubules of female rats comparing to male rats kidneys. The 1 mg/kg of body mass dose of silver nanoparticles was found as minimal dose of appearance of pathomorphological changes in rats kidneys tissue.

**Keywords:** *silver nanoparticles, pathomorphological changes, dose-relation, genderrelated dependence.*

*Впервые поступила в редакцию 11.09.2014 г.  
Рекомендована к печати на заседании  
редакционной коллегии после рецензирования*