

чены при инфицировании ожоговой раны. В перспективе продолженные нами исследования будут направлены на выбор рациональной тактики хирургического лечения, при котором в зависимости от фазы и характера раневого процесса целесообразно применение лазерных нанотехнологий.

Конфликт интересов. Работа выполнена в рамках научно-исследовательской программы кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава РФ. Номер государственной регистрации 01200959762. Работа поддержана грантом Инновационно-инвестиционного фонда Самарской области. Тема: «Экспериментальное обоснование сочетанного применения наночастиц меди и низкоинтенсивного лазерного облучения для лечения ожоговых ран». Номер госрегистрации 01201153381, Самара, 2011 г. Имеется патент на изобретение № 247232: «Способ моделирования термической ожоговой раны у лабораторных животных».

Библиографический список

1. Шин Ф.Е., Стрельников П.И., Странадко Е.Ф. Фото-динамическая терапия экспериментальных ожоговых ран // Лазерная медицина. 2009. № 13. С. 55–60.
2. Богатова И.П., Паничев А.М., Кокшарова В.П. Структура эндотелиоцитов лимфатических капилляров кожи в условиях коррекции раневого процесса при термическом ожоге // Бюллетень СО РАМН. 2005. № 1 (115). С. 37–42.
3. Способская В.В. Патоморфология раневого процесса в зоне глубокого ожога кожи в условиях применения низкоинтенсивного электромагнитного излучения: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 2006. 14 с.
4. Способ моделирования гнойной (инфицированной) хирургической раны в эксперименте: пат. № 2195709 от 27.11.2002 / Г.Е. Афиногенов.
5. Способ моделирования инфицированной кожной раны: пат. № 2431890 от 12.09.2010 / Г.Е. Григорьев.
6. Способ моделирования ожоговых ран в эксперименте: заявка на изобр. № 2010143368 от 22.10.10. / В.В. Алипов.
7. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных (прил. к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755). М., 1980.
8. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123), г. Страсбург, 18.03.1986 г. М., 1990.
9. Способ моделирования термической ожоговой раны кожи у лабораторных животных: пат. № 2472232 от 24.03.2011 / А.В. Колсанов, В.В. Алипов, Е.А. Добрейкин.

Translit

1. Shin F.E., Strel'nikov P. I., Stranadko E. F. Fotodinamicheskaja terapija jeksperimental'nyh ozhogovyh ran // Lazernaja medicina. 2009. № 13. S. 55–60.
2. Bogatova I. P., Panichev A. M., Koksharova V. P. Struktura jendotelioцитов лимфатических капилляров кожи в условиях коррекции раневого процесса при термическом ожоге // Bjulleten' SO RAMN. 2005. № 1 (115). S. 37–42.
3. Boltovskaja V. V. Patomorfologija ranеvogo processa v zone glubokogo ozhoga kozhi v uslovijah primenenija nizkointensivnogo jelektromagnitnogo izlucheniya: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Saratov, 2006. 14 s.
4. Sposob modelirovanija gnojnoj (inficirovannoj) hirurgicheskoy rany v jeksperimente: pat. № 2195709 ot 27.11.2002 / G. E. Afinogenov.
5. Sposob modelirovanija inficirovannoj kozhnoj rany: pat. № 2431890 ot 12.09.2010 / G. E. Grigor'ev.
6. Sposob modelirovanija ozhogovyh ran v jeksperimente: zayavka na izobr. № 2010143368 ot 22.10.10. / V. V. Alipov.
7. Pravila provedeniya rabot s ispol'zovaniem jeksperimental'nyh zhivotnyh (pril. k prikazu MZ SSSR ot 12.08.1977 g. № 755). M., 1980.
8. Evropejskaja konvencija o zashhite pozvonocnyh zhivotnyh, ispol'zuemyh dlja jeksperimentov ili v inyh nauchnyh celjah (ETS № 123), g. Strasburg, 18.03.1986 g. M., 1990.
9. Sposob modelirovanija termicheskoj ozhogovoj rany kozhi u laboratornyh zhivotnyh: pat. № 2472232 ot 24.03.2011 / A. V. Kolsanov, V. V. Alipov, E. A. Dobrejkin.

УДК 572:616.716.8 (571.5)

Оригинальная статья

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ

Г. Н. Маслякова — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, заведующая кафедрой патологической анатомии, профессор, доктор медицинских наук; **С. С. Пахомий** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, ассистент кафедры патологической анатомии; **А. Б. Бучарская** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, руководитель Научно-образовательного центра фундаментальной медицины и нанотехнологий НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии, кандидат биологических наук; **О. В. Злобина** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава, ассистент кафедры гистологии, кандидат медицинских наук; **Н. А. Наволокин** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, кафедра патологической анатомии, студент 6 курса; **А. Н. Понукалин** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, руководитель отдела реконструктивной уронефрологии и трансплантации почки НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии, кандидат медицинских наук; **Н. Г. Хлебцов** — ИБФРМ РАН, заведующий базовой кафедрой биофизики ФНП СГУ, зав. лабораторией нанобиотехнологии ИБФРМ РАН, профессор, доктор физико-математических наук; **Б. Н. Хлебцов** — ИБФРМ РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ИБФРМ РАН, доктор физико-математических наук; **В. А. Богатырев** — ИБФРМ РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ИБФРМ РАН, профессор базовой кафедры биофизики ФНП СГУ, доктор биологических наук.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE ORGANS OF LABORATORY ANIMALS DURING THE PROLONGED ORAL ADMINISTRATION OF GOLD NANOPARTICLES

G. N. Maslyakova — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Pathological Anatomy, Professor, Doctor of Medical Science; **S. S. Pakhomiy** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Pathological Anatomy, Assistant; **A. B. Bucharskaya** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Urology, Head of Scientific Educational Centre of Fundamental Medicine and Nanotechnology, Candidate of Biological Science; **O. V. Zlobina** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Histology, Assistant, Candidate of Medical Science; **N. A. Navolokin** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Medical Faculty; **A. N. Ponukalin** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Urology, Head of Department of Reconstructive Urology and Kidney Transplantation, Candidate of Medical Science; **N. G. Khlebtsov** — Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Head of Laboratory of Nanobiotechnology, Professor, Doctor of Physico-Mathematical Science; **B. N. Khlebtsov** — Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Laboratory of Nanobiotechnology, Chief Research Assistant, Doctor of Physico-Mathematical Science;

V.A. Bogatyrev — Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Laboratory of Nanobiotechnology, Chief Research Assistant, Doctor of Biological Science.

Дата поступления — 26.03.2013 г.

Дата принятия в печать — 30.05.2013 г.

Маслякова Г.Н., Пахомий С.С., Бучарская А.Б., Злобина О.В., Наволокин Н.А., Понукалин А.Н., Хлебцов Н.Г., Хлебцов Б.Н., Богатырев В.А. Морфологические изменения в органах лабораторных животных при длительном пероральном введении золотых наночастиц // Саратовский научно-медицинский журнал. 2013. Т. 9, № 2. С. 208–213.

Цель: оценить выраженность морфологических изменений во внутренних органах лабораторных животных при длительном пероральном введении золотых наночастиц разного размера. **Материал и методы:** Эксперимент выполнен на 40 белых беспородных крысах, разделенных на 4 группы. Животные опытных групп получали перорально золотые наночастицы по соответствующей схеме. **Результаты:** При сравнении морфологических изменений во внутренних органах лабораторных животных установлено, что введение золотых наночастиц разного размера приводит к однотипным нарушениям морфологической структуры, при этом наиболее выраженные изменения вызывают золотые наночастицы размером 1–3 и 50 нм. **Заключение:** Наиболее выраженные морфологические перестройки во внутренних органах вызывают золотые наночастицы размером 1–3 и 50 нм, что свидетельствуют о размерно-зависимом влиянии золотых наночастиц.

Ключевые слова: золотые наночастицы, морфология, морфометрия, токсичность.

Maslyakova G.N., Pakhomiy S.S., Bucharskaya A.B., Zlobina O.V., Navolokin N.A., Ponukalin A.N., Khlebtsov N.B., Khlebtsov B.N., Bogatyrev V.A. Morphological changes in the organs of laboratory animals during the prolonged oral administration of gold nanoparticles // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2013. Vol. 9, № 2. P. 208–213.

The purpose of the article is to assess the severity of the morphological changes in the internal organs of laboratory animals with prolonged oral administration of gold nanoparticles of different sizes. **Material and methods:** The experiment was carried out on 40 albino rats which were divided into 4 groups. Animals of the experimental group received oral gold nanoparticles by the appropriate scheme. **Results:** At comparing the morphological changes in the internal organs of laboratory animals it was established that the introduction of gold nanoparticles of different sizes leads to the same type of disturbances of morphological structure, the gold nanoparticles of 1–3 and 50 nm cause the most expressive changes. **Conclusion:** The most significant morphological modifications in the internal organs were caused by gold nanoparticles of 1–3 and 50 nm. It points out to the size-dependence of the effect of gold nanoparticles.

Key words: gold nanoparticles, morphology, morphometry, toxicity.

Введение. В последние годы отмечается резкое увеличение количества публикаций, посвященных наномедицине [1]. Предполагается, что в ближайшем будущем применение наноматериалов приведет к революционным достижениям в лечении многих заболеваний. Уже сегодня коллоидное золото используют в качестве носителя для доставки лекарственных веществ, генетического материала, антигенов и как собственно лекарственное или диагностическое средство при терапии опухолей или ревматоидного артрита [1, 2].

Однако активное внедрение нанотехнологий в практическую медицину требует тщательного изучения потенциальных рисков и возможных побочных эффектов, связанных с их применением. Несмотря на то что наноматериалы в мире уже используются более десяти лет, ни один вид наночастиц не был изучен в полном объеме на безопасность ни в одной из стран мира [3, 4].

По отношению к золотым наночастицам (ЗНЧ) остаются нерешенными вопросы биораспределения и циркуляции в кровяном русле, их фармакокинетики и выведения из организма, а также потенциальной токсичности с учетом размеров, длительности и способов введения. В рамках данной проблемы актуальным является определение характера и выраженности повреждающего влияния ЗНЧ на организм лабораторных животных с обязательным морфологическим исследованием внутренних органов. Это связано с тем, что оценка морфологического состояния органов, в первую очередь ответственных за метаболизм и экскрецию, непосредственно после окончания введения исследуемого вещества позволяет визуально оценить патологические изменения в структуре органа и охарактеризовать их количественно [5].

Цель: оценить выраженность морфологических изменений во внутренних органах лабораторных животных при длительном пероральном введении ЗНЧ разного размера. Актуальность задачи продемонстрирована недавно в работе [6], в которой также изучались эффекты размера и заряда золотых наночастиц при длительном пероральном введении самкам крыс. В частности, авторы указали, что на сегодняшний день пока трудно сделать какие-либо общие выводы из результатов их исследования.

Материал и методы. Экспериментальное исследование выполняли на базе Научно-образовательного центра фундаментальной медицины и нанотехнологий Саратовского государственного медицинского университета. Эксперименты на животных проводили в соответствии с Женевской конвенцией «International Guiding principles for Biomedical Research Involving Animals» (Geneva, 1990). Принимая во внимание тот факт, что биологические эффекты наночастиц зависят от нескольких параметров, в нашем исследовании использовались частицы коллоидного золота диаметром 1–3 нм, 15 нм и 50 нм (концентрация золота 57 мкг/мл), синтезированные в лаборатории нанобиотехнологии ИБФРМ РАН (г. Саратов) (зав. лабораторией д-р физ.-мат. наук проф. Н.Г. Хлебцов). Средний размер ЗНЧ определяли по электронно-микроскопическим изображениям на микроскопе Libra-120 (Carl Zeiss, Jena, Germany).

Эксперимент выполнен на сорока здоровых белых беспородных половозрелых крысах-самцах с массой тела 180–260 г, полученных из вивария ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России. При разработке модели экспериментального исследования за основу положено «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [5]. Исследование выполнено на четырех группах животных. Первая группа — контрольная. Вторая, третья и четвертая группы — опытные. Крысам опытных групп ЗНЧ вводили перорально через день из расчета 190

Ответственный автор — Маслякова Галина Никифоровна
Адрес: 410012, г. Саратов, Б. Казачья, 112.
Тел: 8 (8452) 66-97-51
E-mail: gmaslyakova@yandex.ru

мкг/кг массы животного в течение 8 дней по следующей схеме: 1-я опытная группа — ЗНЧ диаметром 1–3 нм, 2-я опытная группа — ЗНЧ размером 15 нм, 3-я опытная группа — ЗНЧ 50 нм. Крысам контрольной группы вводили через день перорально по 1 мл физиологического раствора.

Для проведения морфологического исследования проводился забор кусочков внутренних органов (селезенки, печени, почек, легких, желудка). Забор материала осуществляли через 24 часа после окончания введения. Гистологические срезы готовили по стандартной методике и окрашивали гематоксилин-эозином. Морфометрический анализ гистологических препаратов проводили с помощью микровизора медицинского проходящего света μ Vizo-101 ЛОМО.

Для обработки полученных в ходе исследований данных использовали пакет прикладных статистических программ Statistica 10.0 (Stat Soft Inc, США). Представленная статистическая обработка данных заключалась в проверке соответствия формы распределения количественных признаков нормальному с помощью применения теста Колмогорова — Смирнова. Нулевую гипотезу отвергали в случае $p < 0.05$. Для каждого показателя в исследуемых группах вычисляли среднее арифметическое (M), среднюю ошибку среднего арифметического (m), среднеквадратичное отклонение (σ). Показатель достоверности различий (P) определялся с использованием критериев Стьюдента (t). Различия оценивались как достоверные при вероятности 95% ($p < 0.05$) и выше. Исследование взаимосвязи между количественными признаками осуществляли при помощи метода Пирсона, при этом определяли наличие связи, ее направление и силу.

Результаты. Проведенные исследования показали, что морфологические изменения, возникающие во внутренних органах лабораторных животных при длительном пероральном введении ЗНЧ, носят размерно-зависимый характер.

В легких строение бронхиального дерева сохранялось, в просвете бронхов разного калибра содержалась слизь, в группе введения ЗНЧ размером 50 нм

в просвете так же обнаружены спущенные клетки мерцательного эпителия. В области корней легкого располагались клеточные инфильтраты, состоящие преимущественно из лимфоцитов, немногочисленных бластных клеток, макрофагов, плазматических клеток. Во всех группах отмечается увеличение средней площади перибронхиальных инфильтратов: ЗНЧ размером 1–3 нм — 1580, ЗНЧ диаметром 15 нм — 1480, ЗНЧ 50 нм — 1620, что статистически значимо превышало контрольные значения (1098±70) (табл. 1).

В респираторном отделе легких во всех опытных группах отмечалось образование очагов острой эмфиземы с истончением и разрывом межальвеолярных перегородок. В группе введения ЗНЧ размером 50 нм также были обнаружены участки утолщения межальвеолярных перегородок за счет незначительного отека и полнокровия.

В печени гистоархитектоника органа была сохранена, в гепатоцитах развивалась различной степени выраженности белковая дистрофия. При введении ЗНЧ размером 15 нм в цитоплазме гепатоцитов появлялась незначительная зернистость. В группе животных, получавших ЗНЧ диаметром 1–3 нм и 50 нм, обнаружена более выраженная зернистая дистрофия, а в некоторых случаях помимо зернистой дистрофии появлялись единичные клетки с вакуолизацией цитоплазмы. Фрагментация цитоплазмы на отдельные глыбки была обнаружена только в группе введения ЗНЧ размером 50 нм (в 70% случаев).

При анализе морфометрических показателей печени определяли коэффициент нормализации паренхимы (КНП), абсолютное число лимфоцитов и непаренхиматозных элементов (НПЭ) — клеток Купфера, эндотелиоцитов, клеток Ито. При пероральном введении ЗНЧ во всех опытных группах отмечается значительное снижение количества нормальных гепатоцитов и увеличение числа клеток паренхимы с признаками дистрофии и некроза (дегенерирующих) по сравнению с группой контроля (табл. 2).

Число дегенерирующих гепатоцитов при размерах ЗНЧ 15 нм составило 82.7±6.2 ($P < 0.001$), при введении ЗНЧ размером 50 нм — 99.1±10.9 ($P < 0.001$).

Таблица 1

Средняя площадь перибронхиальной инфильтрации при 8-дневном введении ЗНЧ разного размера

Показатель	Контроль	ЗНЧ перорально (190 мкг/кг) ($M \pm m$)		
		ЗНЧ 1–3 нм	ЗНЧ 15 нм	ЗНЧ 50 нм
Средняя площадь перибронхиальной инфильтрации, мм ²	1098±70	1580±130	1480±130	1620±120

Таблица 2

Изменение клеточного состава печени при пероральном введении ЗНЧ разного размера в течение 8 дней

Группы наблюдения	Морфометрические показатели в поле зрения. Ув. 400			
	Общее число дегенерирующих гепатоцитов	Нормальные гепатоциты	Кол-во некротизированных гепатоцитов	КНП
1. Контрольная	37.2±4.1	431.5±24.9	—	11.7±1.7
2. ЗНЧ 1–3 нм	124.58±9.7	143.7±11.9	43.9±6.0	1.15±0.12
3. ЗНЧ 15 нм	82.7±6.2	243±21.2	26.3±3.2	2.9±0.23
4. ЗНЧ 50 нм	99.08±10.9	122.8±9.8	31.6±6.4	1.2±0.13
Достоверность различий	P 1–2<0.001 P 1–3<0.001 P 1–4<0.001	P 1–2<0.001 P 1–3<0.001 P 1–4<0.001	P 1–2<0.001 P 1–3<0.001 P 1–4<0.001	P 1–2<0.001 P 1–3<0.001 P 1–4<0.001

Максимальное количество дегенерирующих гепатоцитов наблюдалось при введении ЗНЧ размером 1–3 нм (124.6 ± 9.7 , $P < 0.001$). Кроме того, в группе введения ЗНЧ 1–3 нм и 50 нм выявляются умеренно выраженные некробиотические изменения в виде фокальных некрозов гепатоцитов с вовлечением в процесс нескольких клеток. Число очаговых некрозов единичных гепатоцитов и групп клеток (3–5 гепатоцитов) составило 9–12 в поле зрения ($\times 400$).

Для оценки выраженности дистрофических и некробиотических изменений в печени применяли коэффициент нормализации паренхимы КНП, показывающий отношение нормальных гепатоцитов к дегенерирующим. Наиболее наглядно реакцию гепатоцитов в ответ на введение ЗНЧ разных размеров иллюстрирует рис. 1.

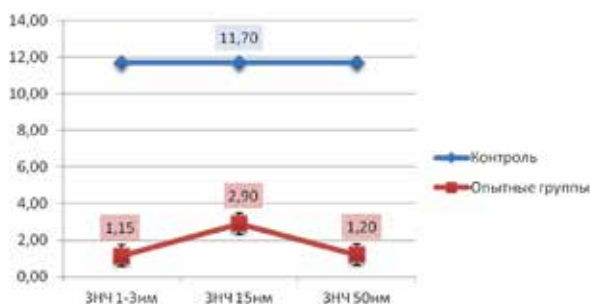


Рис. 1. Изменение КНП при пероральном введении ЗНЧ разного размера в течение 8 дней

Количество НПЭ печени во всех опытных группах увеличивалось по сравнению с группой контроля (табл. 3).

Как видно из табл. 3, в группе крыс, получавших ЗНЧ диаметром 1–3 нм, по сравнению с контрольной группой, абсолютное число клеточных элементов было статистически значимо увеличено за счет лимфоцитов (38.2 ± 3.0 , $P < 0.001$). Аналогичная морфологическая картина наблюдалась и при введении ЗНЧ диаметром 15 нм и 50 нм (38.3 ± 9.1 и 23.9 ± 4.5 соответственно).

При корреляционном анализе обращает на себя внимание большое количество достоверных отрицательных взаимосвязей, что в целом указывает на то, что максимальное повреждающее действие оказали ЗНЧ размером 1–3 нм. Умеренную отрицательную корреляционную зависимость с размером ЗНЧ показали такие параметры, как количество дегенерирующих гепатоцитов ($r = -0.57$, $P < 0.01$), количество некро-

зов ($r = 0.58$, $P < 0.01$), абсолютное число НПЭ ($r = -0.59$, $P < 0.01$) и количество лимфоцитов ($r = -0.69$, $P < 0.01$).

Сила и направление корреляционных зависимостей изменяется в зависимости от сравниваемых показателей. Наиболее выраженная положительная корреляционная зависимость обнаружена между количеством нормальных гепатоцитов и КНП ($r = 0.95$, $P < 0.01$), при этом важным моментом является тот факт, что повышение количества дегенерирующих гепатоцитов и некрозов приводит к снижению КНП ($r = -0.74$, $P < 0.01$ и $r = -0.56$, $P < 0.01$ соответственно). Кроме того, стоит отметить, что увеличение количества дегенерирующих гепатоцитов приводит к уменьшению количества нормальных гепатоцитов ($r = -0.50$, $P < 0.01$) и увеличению количества некрозов ($r = -0.67$, $P < 0.01$). Повышение количества НПЭ печени сопровождается повышением количества лимфоцитов ($r = 0.97$, $P < 0.01$) и клеток РЭС ($r = 0.47$, $P < 0.01$).

При гистологическом исследовании почек существенных отличий морфологической картины между группами не обнаружено. В почках развивается дистрофия эпителия канальцев, отмечается некроз отдельных клеток. Просвет извитых канальцев был сужен, имел звездчатый вид, в некоторых полях зрения в просвете отмечался слущенный эпителий. Клубочки имели нормальные размеры или были незначительно увеличены за счет полнокровия, просвет капсулы свободный. Капиллярные петли клубочков были умеренно расширены, заполнены эритроцитами. В мелких артериолах отмечалось плазматическое пропитывание.

В желудке грубых нарушений структуры органа не выявлено, слизистая оболочка во всех исследуемых случаях была сохранена, инфильтрирована эозинофилами.

В селезенке в группах введения ЗНЧ размером 1–3 и 15 нм отчетливо различалась граница между красной и белой пульпой, лимфоидные фолликулы были обычных размеров, округлой или овальной формы, единичные фолликулы содержали светлые центры размножения, представленные несколькими крупными клетками. В группе введения ЗНЧ 50 нм практически во всех случаях граница между красной и белой пульпой отчетливо не различалась, наружные контуры лимфатических фолликулов были размытые. В белой пульпе отмечалось увеличение размеров лимфатических фолликулов, появлялись светлые центры размножения.

При сравнении морфологических изменений во внутренних органах лабораторных животных можно отметить, что, введение ЗНЧ разного размера приводит к однотипным нарушениям морфологической

Таблица 3

Абсолютное количество лимфоцитов и непаренхиматозных элементов в печени крыс контрольной и опытных групп

Группы наблюдения	Морфометрические показатели абсолютного числа НПЭ в поле зрения. Ув. 400		
	Общее число клеток	Лимфоциты	Клетки РЭС
Контрольная	26.2 ± 5.9	17.6 ± 4.2	8.5 ± 2.39
Введение ЗНЧ диаметром 1–3 нм	47.5 ± 3.7	38.2 ± 3.0	9.33 ± 1.5
Введение ЗНЧ диаметром 15 нм	51.4 ± 11.0	38.3 ± 9.1	13.4 ± 2.6
Введение ЗНЧ диаметром 50 нм	34 ± 4.2	23.9 ± 4.5	10 ± 20
Достоверность различий	$P 1-2 < 0.001$ $P 1-3 < 0.001$ $P 1-4 < 0.001$	$P 1-2 < 0.001$ $P 1-3 < 0.001$ $P 1-4 < 0.05$	$P 1-2 < 0.001$ $P 1-3 < 0.001$ $P 1-4 < 0.001$

структуры, причем наиболее выраженные изменения вызывают ЗНЧ размером 1–3 и 50 нм.

Обсуждение. Сведений о влиянии ЗНЧ на морфологию внутренних органов крайне мало. Основная масса исследований, направленных на изучение токсичности ЗНЧ, выполнена в экспериментах с клеточными культурами *in vitro*. Количество данных, полученных в экспериментах с животными *in vivo*, весьма незначительно. Оценке токсического действия ЗНЧ различного диаметра (от 3 до 100 нм) посвящена работа Chen et al. [7]. По их данным, внутрибрюшинное введение ЗНЧ диаметром 3, 5, 50 и 100 нм не сопровождалось какими-либо изменениями в состоянии животных, в то время как введение ЗНЧ диаметром 8, 12, 17 и 37 нм приводило к повышенной утомляемости, потере аппетита, изменению окраса, потере веса. В работе Cho et al. [8] при внутривенном однократном введении 13 нм ЗНЧ в дозах 0.17, 0.85 и 4.26 мг/кг обнаружены признаки острого воспаления и апоптоза в клетках печени.

Исследованию закономерностей распределения ЗНЧ в организме лабораторных животных и изучению морфологических изменений, развивающихся под их влиянием в мягких тканях и внутренних органах, посвящена работа Масляковой и др. [9] (см. также работу Terentyuk et al. [10] по размерной зависимости циркуляции, биораспределения и морфологическим эффектам золотых наночастиц и наноболочек). Установлено, что морфологические изменения во внутренних органах при внутривенном введении ЗНЧ носят размерно-зависимый характер. По данным авторов, морфофункциональное состояние органов в большей степени обусловлено размером ЗНЧ и в меньшей степени их количественным содержанием.

Проведенное нами исследование показало, что морфологические изменения во внутренних органах при длительном пероральном введении ЗНЧ носили размерно-зависимый характер, при этом наиболее выраженные изменения вызывали ЗНЧ размером 1–3 и 50 нм. На гистологических препаратах печени во всех группах зафиксированы признаки повреждения гепатоцитов. Морфологическим подтверждением размерно-зависимого влияния ЗНЧ на строение печени служит снижение КНП, который является одним из важнейших критериев в морфологической оценке состояния печени, так как позволяет оценить интенсивность дистрофических и некробиотических изменений в органе на основе отношения количества нормальных гепатоцитов к дегенерирующим [11]. Минимальные значения КНП были получены в группах введения ЗНЧ размерами 1–3 и 50 нм (рис. 2).

В легких лабораторных животных отмечается увеличение средней площади перибронхиальных инфильтратов, максимальные показатели зафиксированы для групп введения ЗНЧ размером 1–3 и 50 нм (рис. 3).

В почках развивается дистрофия эпителия канальцев, отмечается некроз отдельных клеток. В селезенке в группе введения ЗНЧ 50 нм найдены признаки усиления процессов пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, что выразилось в повышении количества иммунобластов в белой пульпе селезенки.

Описанная морфологическая картина вполне согласуется с литературными данными о морфологических перестройках внутренних органов лабораторных животных под влиянием различных воздействий. Таким образом, выявленные морфологические изменения во внутренних органах указывают на вполне определен-

ную и отчетливую тенденцию к развитию размерно-зависимого повреждающего действия ЗНЧ.

Заключение. Резюмируя изложенные данные, можно прийти к заключению, что пероральное введение ЗНЧ разного размера в течение 8 дней приводит к изменению морфологического строения внутрен-

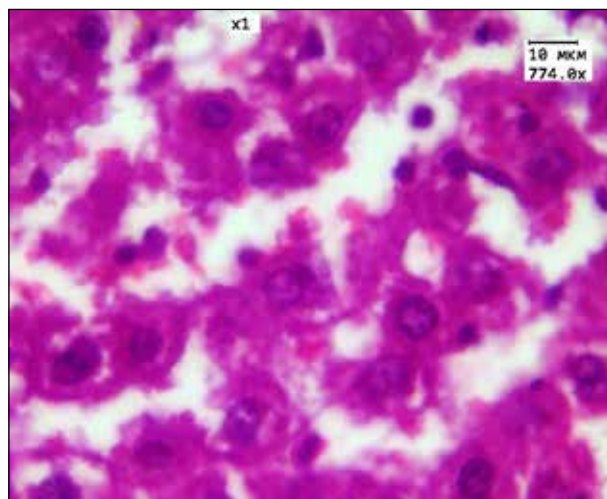
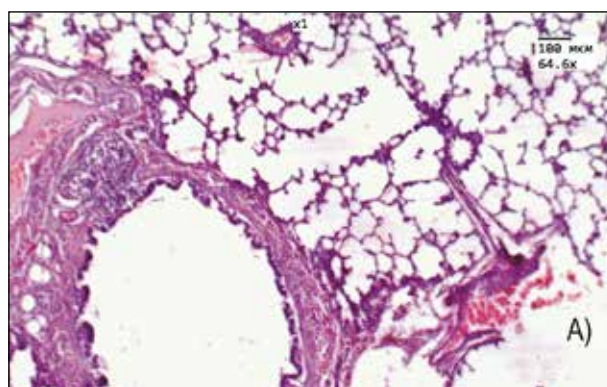
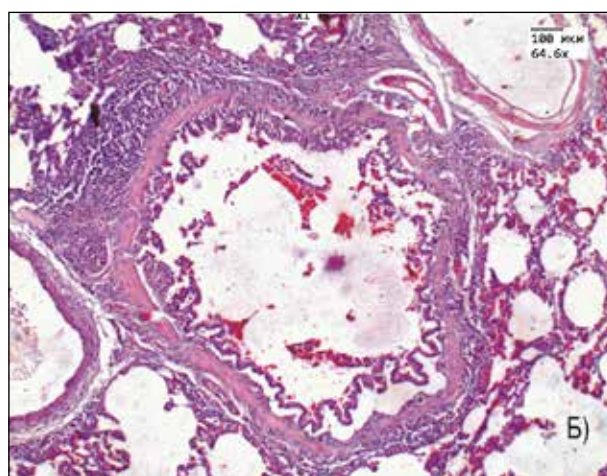


Рис. 2. Морфологическая картина печени при пероральном введении ЗНЧ 50 нм



А



Б

Рис. 3. Морфологическая картина легкого: А) контрольная группа, Б) группа перорального введения ЗНЧ размером 50 нм

них органов лабораторных животных, которое имеет обратимый характер. Наиболее выраженные морфологические перестройки во внутренних органах вызывают ЗНЧ размером 1–3 и 50 нм, что свидетельствуют о размерно-зависимом влиянии ЗНЧ.

Конфликт интересов. Отсутствует.

Библиографический список

1. Dykman L., Khlebtsov N. Gold nanoparticles in biomedical applications: Recent advances and perspectives // Chem. Soc. Rev. 2012. Vol. 41. P. 2256–2282.
2. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine / E. C. Dreaden, A. M. Alkilany, X. Huang [et al.] // Chem. Soc. Rev. 2012. Vol. 41. P. 2740–2779.
3. Khlebtsov N. G., Dykman L. A. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies // Chem. Soc. Rev. 2011. Vol. 40. P. 1647–1671.
4. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 31 октября 2007 г. № 79 «Об утверждении Концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов». М., 2007.
5. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ М.: Медицина, 2005. 86 с.
6. Schleh C., Semmler-Behnke M., Lipka J., Wenk A., Hirn S., Schäffler M., Schmid G., Simon U., Kreyling W. G. Size and surface charge of gold nanoparticles determine absorption across intestinal barriers and accumulation in secondary target organs after oral administration // Nanotoxicology. 2012. Vol. 6. P. 36–46.
7. Chen Y.-S., Hung Y.-C., Liao I., Huang G. S. Assessment of the in vivo toxicity of gold nanoparticles // Nanoscale Res. Lett. 2009. Vol. 4. P. 858–864.
8. Cho W.-S., Cho M., Jeong J., Choi M., Cho H.-Y., Han B. S., Kim S. H., Kim H. O., Lim Y. T., Chung B. H., Jeong J. Acute toxicity and pharmacokinetics of 13 nm-sized PEG-coated gold nanoparticles // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2009. Vol. 236. P. 16–24.
9. Морфологические изменения во внутренних органах крыс после внутривенного введения золотых наночастиц / Г. Н. Маслякова, Л. В. Сулейманова, Г. С. Терентюк [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. 2009. Т. 8, № 1. С. 21.
10. Circulation and distribution of gold nanoparticles and induced alterations of tissue morphology at intravenous particle delivery / G. S. Terentyuk, G. N. Maslyakova, L. V. Suleymanova [et al.] // J. Biophotonics. 2009. Vol. 2. P. 292–302.

11. Проблема регенерации патологически измененных органов и обратимости патологических изменений / под ред. Б. П. Солопаева // Регенерация, адаптация, гомеостаз: сб. науч. трудов. Горький, 1990. С. 6.

Translit

1. Dykman L., Khlebtsov N. Gold nanoparticles in biomedical applications: Recent advances and perspectives // Chem. Soc. Rev. 2012. Vol. 41. P. 2256–2282.
2. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine / E. C. Dreaden, A. M. Alkilany, X. Huang [et al.] // Chem. Soc. Rev. 2012. Vol. 41. P. 2740–2779.
3. Khlebtsov N. G., Dykman L. A. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies // Chem. Soc. Rev. 2011. Vol. 40. P. 1647–1671.
4. Postanovlenie Glavnogo gosudarstvennogo sanitarnogo vracha RF ot 31 oktjabrja 2007 g. № 79 «Ob utverzhdenii Konceptii toksikologicheskikh issledovanij, metodologii ocenki riska, metodov identifikacii i kolichestvennogo opredelenija nanomaterialov». M., 2007.
5. Habriev R. U. Rukovodstvo po jeksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv M.: Medicina, 2005. 86 s.
6. Schleh C., Semmler-Behnke M., Lipka J., Wenk A., Hirn S., Schäffler M., Schmid G., Simon U., Kreyling W. G. Size and surface charge of gold nanoparticles determine absorption across intestinal barriers and accumulation in secondary target organs after oral administration // Nanotoxicology. 2012. Vol. 6. P. 36–46.
7. Chen Y.-S., Hung Y.-C., Liao I., Huang G. S. Assessment of the in vivo toxicity of gold nanoparticles // Nanoscale Res. Lett. 2009. Vol. 4. P. 858–864.
8. Cho W.-S., Cho M., Jeong J., Choi M., Cho H.-Y., Han B. S., Kim S. H., Kim H. O., Lim Y. T., Chung B. H., Jeong J. Acute toxicity and pharmacokinetics of 13 nm-sized PEG-coated gold nanoparticles // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2009. Vol. 236. P. 16–24.
9. Морфологические изменения во внутренних органах крыс после внутривенного введения золотых наночастиц / Г. Н. Маслякова, Л. В. Сулейманова, Г. С. Терентюк [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. 2009. Т. 8, № 1. С. 21.
10. Circulation and distribution of gold nanoparticles and induced alterations of tissue morphology at intravenous particle delivery / G. S. Terentyuk, G. N. Maslyakova, L. V. Suleymanova [et al.] // J. Biophotonics. 2009. Vol. 2. P. 292–302.
11. Проблема регенерации патологически измененных органов и обратимости патологических изменений / под ред. Б. П. Солопаева // Регенерация, адаптация, гомеостаз: сб. науч. трудов. Горький, 1990. С. 6.

УДК 615.099.091:616–006.6:615:635.6

Оригинальная статья

МОРФОЛОГИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ И ОПУХОЛИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС С ПЕРЕВИТЫМ РАКОМ ПЕЧЕНИ РС-1 ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ АВРАНА ЛЕКАРСТВЕННОГО (*GRATIOLA OFFICINALIS* L.) И КУКУРУЗЫ АНТОЦИАНОВОЙ (*ZEA MAYS* L.)

Н. А. Наволокин — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, студент 6 курса лечебного факультета; **Н. В. Полуконова** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, профессор кафедры общей биологии фармакогнозии и ботаники, профессор, доктор биологических наук; **Г. Н. Маслякова** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, заведующая кафедрой патологической анатомии, профессор, доктор медицинских наук; **А. В. Бучарская** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, руководитель НОЦ фундаментальной медицины и нанотехнологий, кандидат биологических наук; **Н. А. Дурнова** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, заведующая кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники, доцент, доктор биологических наук.

INTERNAL ORGANS MORPHOLOGY AND TUMORS IN LABORATORY RATS WITH TRANSPLANTED LIVER CANCER PC-1 BY ORAL INTRODUCTION CONTAINING EXTRACT OF *GRATIOLA* (*GRATIOLA OFFICINALIS* L.) AND ANTHOCYAN MAIZE (*ZEA MAYS* L.)

N. A. Navolokin — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Medical Faculty, Student; **N. V. Polukonova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of General Biology, Botany and Pharmacognosy, Professor, Doctor of Biological Science; **G. N. Maslyakova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Pathological Anatomy, Professor, Doctor of Medical Science; **A. V. Bucharskaya** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Research Center of Fundamental Medicine and Nanotechnology, Candidate of Medical Science; **N. A. Durnova** — Saratov State