

УДК 546.28+577.115/.15+581.4+615.9:001.5

# ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НЕЙРОЦИТІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПІСЛЯ ІНТРАТРАХЕАЛЬНОЇ ІНСТИЛЯЦІЇ НАНОЧАСТИНОК ВИСОКОДИСПЕРСНОГО АМОРФНОГО КРЕМНЕЗЕМУ

Діденко М. М., Стежка В. А., Зінченко В. М.

ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», м. Київ

*Вступ.* Одним із найнебезпечніших проявів загальнотоксичної дії різних за походженням наночастинок (НЧ) незалежно від джерел та шляхів надходження до організму (з повітрям, водою, їжею, ліками, з одягу) є їхня транслокація до внутрішнього середовища і розподіл між органами, включаючи легені, серце, печінку, селезінку, сімenniки та мозок. Стосовно механізму проникнення НЧ до мозку дискутуються два можливих шляхи: 1) безпосередньо через гематоенцефалічний бар'єр; 2) через назальні нерви.

*Мета дослідження.* Вивчити особливості токсикодинамічного впливу НЧ високодисперсного аморфного кремнезему різних розмірів на морфофункціональний стан нейронів головного мозку щурів після одноразової інтратрахеальної інстиляції у вигляді суспензій.

*Матеріали та методи дослідження.* Дослідження проведено на 128 щурах-самцях Вістар з вихідною масою тіла 190–200 г, які були розподілені на контрольну та три дослідні групи. Досліджували морфофункціональний стан нейронів глибоких шарів кори великих півкуль головного мозку щурів після одноразової інтратрахеальної інстиляції під етаміналовим наркозом (3,0 мг/200 г маси тіла) НЧ високодисперсного аморфного кремнезему трьох розмірів (A300 – 9 нм, A100 – 38 нм, A50 – 87 нм) у дозах, стандартизованих по: питомій площі поверхні (0,25 м<sup>2</sup>), що забезпечувало контакт НЧ з 25 % поверхні альвеол (серія S); їхній кількості (1000 НЧ/1 клітину альвеолярної поверхні легень, 3,0·10<sup>11</sup>/щура, серія N); масі речовини (25 мг/щура, серія M). Зрізи глибоких шарів великих півкуль головного мозку щурів забарвлювали гематоксиліном і еозином та тіоніном по Ніслю.

*Результати.* Встановлено, що всі НЧ, незалежно від їхнього розміру та концентрацій, що досліджувалися, викликали структурні зміни в нейронах та окремих зонах їхньої цитоплазми, які можна звести до трьох типів: а) підвищення функціональної активності нейронів, яке підтверджувалося частковим хроматолізом базофільної речовини і краєвою та перинуклеарною вакуолізацією цитоплазми та частковим її гіперхроматозом при збереженні структури ядра і ядерця (НЧ усіх кремнеземів, серії S, N, M); б) гальмування, зниження, або часткове припинення функціональної активності нейронів, про що свідчили краєвий або центральний хроматоліз базофільної речовини цитоплазми з частковим лізисом хроматину ядра, або різке гіперхромне забарвлення цитоплазми (НЧ усіх кремнеземів, серії S, N, M); в) дистрофічні та некробіотичні зміни, які проявлялися тотальним хроматолізом базофільної речовини в цитоплазмі з пікнозом ядра, яке розташоване ектопічно (через 4 місяці, НЧ кремнеземів A100S, A300S, A100N), перинуклеарним набряком, появою в цитоплазмі нейронів крупних вакуолів, що призводило до ектопії ядра (через 4 міс, НЧ кремнезему A100M), зморшеними нейронами та нейронами-«тінями», як свідченням незворотності їхнього ушкодження (через 1 місяць, НЧ кремнеземів A50S, A100S, A300S, A300N; через 4 міс, НЧ кремнеземів A50M, A50S, A300M). Перші два типи (а, б) зміни функціонального стану нейронів супроводжувалися проліферацією нейрогліальних клітин, що, виходячи з їхньої захисної фізіологічної ролі відносно нейронів, свідчить, з одного боку, за наявність несприятливого хімічного впливу, а з іншого, за розвиток компенсаторно-приспосувальних процесів у центральній нервовій системі. Другий та третій типи (б, в) структурних змін у нейронах поєднувалися зі зменшенням відносної кількості нейрогліальних клітин і значно частіше виявлялися в щурів через 1 та 4 міс експерименту, вказуючи на посилення токсичного впливу НЧ на тканину мозку.

*Заключення.* Отримано підтвердження здатності НЧ високодисперсного аморфного кремнезему проникати через гематоенцефалічний бар'єр та чинити пошкоджуючу дію на тканину мозку.

**Ключові слова:** нейрони головного мозку, мікроглія, наночастинок (9, 38, 87 нм), високодисперсний аморфний кремнезем, інтратрахеальна інстиляція, щури-самці Вістар

## Вступ

Одним із найнебезпечніших проявів загальнотоксичної дії різних за походженням наночастинок (НЧ), незалежно від джерел та шляхів надходження до організму (з повітрям, водою, їжею, ліками, з одягу), є їхня транслокація до внутрішнього середовища і розподіл між органами, включаючи легені, серце, печінку, селезінку, сім'яники і мозок. Стосовно механізму проникнення НЧ до мозку дискутуються два можливих шляхи: 1) безпосередньо через гематоенцефалічний бар'єр, 2) через назальні нерви [1].

*Мета дослідження* – вивчити особливості токсикодинамічного впливу НЧ високодисперсного аморфного кремнезему різних розмірів на морфофункціональний стан нейронів головного мозку щурів після одноразової інтратрахеальної інстиляції у вигляді суспензій.

## Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на 128 щурах-самцях Вістар з вихідною масою тіла 190–200 г, які були пропорційно розподілені на контрольну (18 тварин) та три дослідні групи. Тваринам відповідних дослідних груп під етаміналовим наркозом (3,0 мг/200 г маси тіла) за спеціально відпрацьованою авторською методикою з використанням дитячого ларингоскопа та зонда інтратрахеально інстилювали стандартизовані наступним чином дози хімічних речовин: 1) по питомій площі поверхні з розрахунку 0,25 м<sup>2</sup>, що дозволяло забезпечити безпосередній контакт НЧ, враховуючи їхню сферичну форму та

площу альвеолярної поверхні в щура з масою тіла 200 г (0,5 м<sup>2</sup>) [2], з 25 % поверхні альвеол у об'ємі 0,25 мл фізіологічного розчину (серія S, 45 тварин); 2) по кількості НЧ, які контактують з 1 клітиною альвеолярної поверхні легень (1000 НЧ/1 клітину, 3,0 · 10<sup>11</sup> НЧ/щура) в об'ємі 0,25 мл фізіологічного розчину (серія N, 45 тварин); 3) по масі речовини (25 мг/щура) в об'ємі 0,5 мл фізіологічного розчину (серія M, 20 тварин).

Використовували аморфний високодисперсний кремнезем, отриманий за допомогою пірогенної технології сплавленням SiCl<sub>4</sub> в Н<sub>2</sub> – О<sub>2</sub> (водневокисневому полум'ї) марок: А-50 (середній розмір НЧ 87 нм, питома площа поверхні 39 м<sup>2</sup>/г; А-100 (середній розмір НЧ 38 нм, питома площа поверхні 81 м<sup>2</sup>/г; А-300 (середній розмір НЧ 9 нм, питома площа поверхні 303 м<sup>2</sup>/г). Усі марки аморфного високодисперсного пірогенного кремнезему отримано доктором В. І. Зарко в Інституті хімії поверхні НАН України.

Додаткові характеристики параметрів для аморфних високодисперсних кремнеземів та стандартного порошку частинок розміром 24,0 ± 0,6 мкм Люберецького кварцу ПК-3 у зазначених дозах, які використано в експериментах, наведено в таблиці.

Щурів дослідних серій S і N та контрольної групи виводили з експерименту через 1 тиж., 1 та 4 міс, а щурів дослідної групи M тільки через 4 міс декапітацією, дотримуючись правил гуманного поводження з лабораторними тваринами.

Для дослідження відбирали головний мозок, який фіксували в 10 % нейтральному формаліні. Шматочки тканини глибоких шарів великих півкуль головного мозку проводили через спирти

**Таблиця**

**Характеристика доз НЧ високодисперсних аморфних кремнеземів марок А50, А100 і А300 та частинок стандартного порошку Люберецького кварцу ПК-3, які використовувалися для інтратрахеальної інстиляції щурам**

Серія досліджень	Дози хімічних речовин по:		
	масі, мг	питомій площі поверхні, м <sup>2</sup>	кількості наночастинок
A50S	0,6	0,25	9,8·10 <sup>14</sup>
A100S	0,3	0,25	5,5·10 <sup>13</sup>
A300S	0,08	0,25	1,05·10 <sup>12</sup>
A50N	0,086	0,007	3,0·10 <sup>11</sup>
A100N	0,0068	0,001	3,0·10 <sup>11</sup>
A300N	0,00077	0,00008	3,0·10 <sup>11</sup>
A50M	25	1,0	3,92·10 <sup>16</sup>
A100M	25	2,05	4,40·10 <sup>15</sup>
A300M	25	7,6	3,50·10 <sup>14</sup>
Кварц ПК-3М	25	1,57·10 <sup>-3</sup>	2,50·10 <sup>6</sup>

(700–1000) та заливали в парафін. Зрізи тканини мозку забарвлювали гематоксилином і еозином та тіоніном по Нісслю [3].

### Результати дослідження та їх обговорення

У щурів контрольної групи в динаміці експерименту в цитоплазмі нейронів глибоких шарів великих півкуль головного мозку визначали чітку структуру базofilної речовини (тигроїду), яка рівномірно розподілялася в ній. Разом з цим, у деяких нейронах спостерігали лізис (хроматоліз) тигроїду по периферії цитоплазми. Ядра виявлялися достатньо світлими, мали центральне положення й чітко контуроване темне ядрце. Проте виявляли й поодинокі гіперхромно забарвлені клітини з пікноморфним ядром та погано контурованим ядрцем. Іноді гіперхромне забарвлення займало частково цитоплазму нейронів. Ядра в них були як світлі, так і з інтенсивною забарвленістю хроматину. Отже, у щурів контрольної групи в динаміці експерименту спостерігали фізіологічне підвищення функціональної активності багатьох нейронів та активне функціонування певних зон цитоплазми (краєвий хроматоліз, частково гіперхромно забарвлену цитоплазму) при збереженні структури ядра.

Після одноразової інтратрахеальної інстиляції щурам НЧ високодисперсних аморфних кремнеземів зазначених марок у дозі, стандартизований по площі питомої поверхні (0,25 м<sup>2</sup>, серія S), виявлені наступні морфологічні особливості в нейронах глибоких шарів великих півкуль головного мозку. Через 1 тиждень та, особливо, через 1 місяць після інтратрахеальної інстиляції щурам НЧ кремнезему А50S порівняно з контролем збільшувалася кількість нейронів із краєвим, перинуклеарним та тотальним хроматолізом базofilної речовини цитоплазми. У цих нейронах частіше виявляли ядра зі світлим ядерним хроматином, чітким ядрцем, а інколи гіперхромні, або з частковим лізисом хроматину. Звертало на себе увагу збільшення кількості гіперхромних нейронів (1 міс) з різною забарвленістю базofilної речовини цитоплазми. Більш гіперхромні нейрони мали зменшені розміри (зморщені) без контурування ядра. У цей самий строк експерименту визначали поодинокі нейрони з ектопічно розташованим ядром та краєвою вакуолізацією цитоплазми. Відмічено проліферацію мікроглії. Через 4 міс експерименту збільшувалася кількість гіперхромних зморщених

нейронів без визначення контурів ядра, з периферичним та перинуклеарним хроматолізом базofilної речовини та з краєвою вакуолізацією цитоплазми. Визначалися поодинокі клітини-«тіні». Збільшувалася кількість мікроглії.

Після інтратрахеальної інстиляції щурам НЧ кремнезему А100S у всі строки експерименту (як і після інстиляції НЧ кремнезему А50S) визначали багато гіперхромних нейронів та клітин з частковим хроматолізом базofilної речовини в цитоплазмі. Виявляли поодинокі нейрони з перинуклеарною вакуолізацією цитоплазми. Через 1 міс експерименту спостерігали багато зморщених нейронів, а через 4 міс — звертало на себе увагу наявність великої їхньої кількості з тотальним хроматолізом базofilної речовини цитоплазми та пікноморфним ядром.

Після інтратрахеальної інстиляції щурам НЧ кремнезему А300S у всі строки експерименту виявляли значне збільшення кількості гліальних клітин. При цьому, поряд з нейронами з нормальною структурою цитоплазми, ядра і ядрця, виявляли гіперхромно забарвлені без контурування ядер, зморщені (особливо через 1 міс експерименту) з тотальним або периферичним хроматолізом базofilної речовини цитоплазми та ектопією ядра в останніх (через 4 міс експерименту).

Таким чином, проведені морфологічні дослідження нейронів глибоких шарів кори великих півкуль головного мозку після інтратрахеальної інстиляції щурам НЧ кремнеземів у дозі, стандартизований по питомій площі поверхні (0,25 м<sup>2</sup>), свідчили за різний їхній функціональний стан або окремих зон їхньої цитоплазми. Еквівалентом підвищеної морфофункціональної активності нейронів слід визначити частковий хроматоліз базofilної речовини, вакуолізацію цитоплазми (краєва, перинуклеарна), частковий гіперхроматоз цитоплазми при збереженні структури ядра та ядрця. Нейрони з такими морфологічними ознаками мали місце в різній кількості після інтратрахеальної інстиляції щурам НЧ усіх кремнеземів у всі строки експерименту. Такі морфологічні зміни в нейронах, як краєвий або центральний хроматоліз базofilної речовини цитоплазми з частковим лізисом хроматину ядра (1 тижд., А50S), різке гіперхромне забарвлення цитоплазми (1 і 4 міс, А50S) слід визначити як зниження їхнього функціонального стану (гальмування), або ж тимчасове припинення активності. Зазначені вище морфологічні ознаки морфологічних

порушень у нейроцитах слід віднести до структурно-приспосувальних змін в умовах наявності несприятливого екзогенного хімічного впливу на центральну нервову систему щурів. Важливо зазначити, що вони супроводжувалися гіперплазією мікроглії. Разом з цим, особливу увагу звертала на себе наявність дистрофічних процесів у нейроцитах. Вони проявлялися тотальним хроматолізом базозофільної речовини в цитоплазмі з пікноморфним ектопічно розташованим ядром (4 міс, A100S, A300S). Наявність же зморщених клітин (1 міс, НЧ усіх кремнеземів) та клітин-«тіней» (4 міс, A50S) класифікуються як незворотні процеси в нейроцитах.

Морфологічні дослідження нейроцитів глибоких шарів півкуль головного мозку в щурів після інтратрахеальної інстиляції НЧ високодисперсних аморфних кремнеземів у дозі, стандартизованій по їхній кількості ( $3,0 \cdot 10^{11}$ /щура, серія N) виявили наступні їхні особливості. Після інстиляції щурам НЧ кремнезему A50N порівняно з контролем у динаміці експерименту спостерігали збільшення кількості гіперхромно забарвлених нейроцитів. Поряд з цим визначали нейроцити з перинуклеарним (центральним) хроматолізом базозофільної речовини в цитоплазмі (1 тижд., 1 міс). Окремі з них мали ектопічно розташоване ядро, або воно було пікноморфне (1 міс). Мали місце нейроцити з краєвою вакуолізацією цитоплазми та збільшеним розміром ядра, яке мало чітку структуру хроматину й ядерця (1 тижд., 1 міс). Виявлялися поодинокі зморщені нейроцити (1 міс). Через 4 міс експерименту зростала кількість зморщених нейроцитів, клітин з різними видами хроматолізу базозофільної речовини та краєвою вакуолізацією цитоплазми. Ядра клітин були різними за забарвленням і мали чітке ядро.

Після інтратрахеальної інстиляції щурам НЧ кремнезему A100N через 1 тижд. звертала увагу наявність великої кількості гіперхромно забарвлених нейроцитів. Виявлялися багато нейроцитів з частковим хроматолізом базозофільної речовини в цитоплазмі (центральним, периферичним). Ядра цих клітин мали різні розміри та забарвленість хроматину, ядерце чітке. Виявлялися поодинокі зморщені нейроцити. Через 1 міс експерименту в щурів цієї групи в багатьох нейроцитах визначали гомогенну гіперхромно забарвлену базозофільну тигроїдну речовину. Ядра значної кількості нейроцитів пікноморфні, окремі мають гіпертрофоване пікнотичне ядро. Через 4 міс експерименту слід особ-

ливо відзначити наявність поодиноких нейроцитів з перинуклеарним набряком, розрихленою цитоплазмою по периферії клітинного тіла, клітин з вакуолями у цитоплазмі. Останнє призводило до ектопії та деформації пікнотичного ядра нейроцитів. Мали місце зморщені нейроцити.

Після інтратрахеальної інстиляції щурам НЧ кремнезему A300N через 1 тижд. спостерігали збільшення кількості мікрогліальних клітин, нейроцитів з перинуклеарним хроматолізом базозофільної речовини цитоплазми та різкою базозофільною її периферичною зоною (зерна базозофільної речовини). Ядра нейроцитів як гіперхромні, так і світлі — з чіткими ядрцями. Виявлялися багато гіперхромно забарвлених нейроцитів, витягнутих за формою. Через 1 міс порівняно з попереднім строком експерименту визначали перичелюлярний набряк окремих нейроцитів, збільшувалася кількість нейроцитів з перинуклеарним хроматолізом базозофільної речовини цитоплазми. Ядра останніх — збільшені в розмірі (гіпертрофовані), а окремі — пікноморфні та ектопічно розташовані. Виявлялися багато зморщених нейроцитів. У той самий час мікрогліальних клітин виявляли мало. Через 4 міс експерименту звертало на себе увагу збільшення розмірів окремих нейроцитів, їхнього ядра, а в цитоплазмі — укрупнення по периферії зерен базозофільної речовини. Ядра таких клітин — частіше світлі, ядро гіпертрофоване, гіперхромне. Як і після 1 міс експерименту мали місце нейроцити з перинуклеарним хроматолізом базозофільної речовини в цитоплазмі, гіперхромно забарвлені та поодинокі зморщені.

Таким чином, інтратрахеальна інстиляція щурам НЧ високодисперсних аморфних кремнеземів у дозі, стандартизованій по їхній кількості ( $3,0 \cdot 10^{11}$ /щура, серія N), викликала розвиток різних видів часткового хроматолізу базозофільної речовини в цитоплазмі в нейроцитах глибоких шарів кори великих півкуль головного мозку. Означені цитоплазматичні процеси, які поєднувалися зі збереженням структури ядра, відносяться до функціональних змін у нейроцитах і свідчать про підвищення функціональної активності окремих зон цитоплазми різних нейронів. До такої зміни активності нейроцитів слід віднести й збільшення розміру клітинного тіла, ядра, ядерця, укрупнення зерен базозофільної речовини (1 тижд., 4 міс, A300N), що може перейти в хроматоліз базозофільної субстанції в цитоплазмі, або в гіперхромне її забарвлення залежно від того, як реалізується процес — шляхом

агрегації, або ж розпилення базofilної речовини. Виявлена морфологічно різка гіперхромія цитоплазми нейрокитів із частковою або повною відсутністю контурування ядра є одним із важливих доказів гальмування функціонального стану нейрокитів. Ці зміни, характерні для НЧ кремнеземів А50N (усі строки експерименту), А100N (1 і 4 міс), А300N (1 тижд.). Особливу увагу привертала наявність дистрофічних процесів у нейрокитах — перинуклеарний набряк з розрихленням цитоплазми та поява в цитоплазмі крупних вакуолів з ектопією ядра — (4 міс, А100N), нейрокити з ектопічно розташованим ядром (1 тижд., А50N; 4 міс, А100N). Наявність зморщених клітин (4 міс, А50N; 1 міс, А300N) слід віднести до припинення їхньої функціональної активності, або ж до незворотнього процесу і загибелі.

У окремій серії досліджень, у якій шурам одноразово інтратрахеально інстилювали НЧ високодисперсних аморфних кремнеземів та частинки порошку Люберецького кварцу ПК-3 розміром ( $24,0 \pm 0,6$ ) мкм у дозі, стандартизований по масі речовини (25 мг/шура), через 4 міс у нейрокитах великих півкуль головного мозку також виявлені суттєві морфологічні зміни (серія М). Так, після інстиляції шурам НЧ кремнезему А50М спостерігали збільшення відносної кількості мікрогліальних клітин. При цьому в цитоплазмі нейрокитів виявили периферичний хроматоліз базofilної речовини цитоплазми. Ядро багатьох клітин — світле, ядерце чітке, збільшене в розмірі. Проте в окремих нейрокитів його не визначено. У полі зору було багато гіперхромно забарвлених клітин з погано контурованим ядром. Мали місце й поодинокі зморщені нейрокити.

Після інтратрахеальної інстиляції шурам НЧ кремнезему А100М порівняно з НЧ кремнезему А50М збільшувалася кількість нейрокитів з гіперхромією всієї цитоплазми. Ядра визначали лише в деяких нейрокитах, вони були пікноморфні, ядерце погано контуроване. Багато гіперхромних нейрокитів мали малі розміри та різні форми клітинного тіла. Виявляли окремі нейрокити з вакуолізацією цитоплазми або перинуклеарним хроматолізом базofilної речовини. Мікрогліальних клітин — мало.

Після інтратрахеальної інстиляції шурам НЧ кремнезему А300М збільшувалася кількість нейрокитів зі зникненням базofilної речовини цитоплазми перинуклеарно та периферично. Ядро клітин — частіше світле, ядерце темне, збільшене в

розмірі. Гіперхромію цитоплазми (часткову та повну) визначали в багатьох нейрокитах. Ядра в них визначали не завжди. Зморщені клітини — поодинокі. Мікроглії мало.

Після інтратрахеальної інстиляції шурам частинок порошку Люберецького кварцу ПК-3 звертали на себе увагу периваскулярний набряк та поодинокі дрібні крововиливи в глибоких шарах кори великих півкуль головного мозку. При цьому багато нейрокитів мали гіперхромне забарвлення всієї цитоплазми. Їхні ядра — пікноморфні, багато з них не контуровані. Спостерігали значну кількість клітин з різними видами хроматолізу базofilної речовини цитоплазми (перинуклеарний, периферичний, а в окремих нейрокитах — тотальний) зі збереженням ядра і ядерця. У полі зору завжди були зморщені нейрокити та поодинокі клітини «тіні». Мікрогліальних клітин — мало.

Таким чином, результати морфологічних досліджень у цій серії досліджень показали, що інтратрахеальна інстиляція шурам НЧ високодисперсних аморфних кремнеземів та частинок порошку Люберецького кварцу ПК-3 у дозі, стандартизований по масі речовини (25 мг/шура), через 4 міс призводила до формування функціонально-приспосовувальних змін у нейрокитах кори великих півкуль головного мозку. Вони мали як підвищену активність (часткове зникнення базofilної речовини — хроматоліз, або помірне гіперхромне забарвлення цитоплазми при збереженні структури ядра), так і її зниження — гальмування активності нейрокитів (різке гіперхромне забарвлення цитоплазми без чіткого контурування ядра). Останнє більше визначали після інстиляції шурам НЧ кремнезему А100М та частинок порошку кварцу ПК-3М. Слід зазначити наявність зморщених нейрокитів (НЧ кремнеземів А50М, А300М, частинки порошку кварцу ПК-3М) та клітин «тіней» (частинки порошку кварцу ПК-3М), що свідчить за наявність у них некротичних незворотних процесів.

Узагальнюючи результати досліджень морфологічного стану нейрокитів глибоких шарів кори великих півкуль головного мозку шурав після одноразової інтратрахеальної інстиляції НЧ високодисперсного аморфного кремнезему трьох розмірів (9, 38, 87 нм) у дозах, стандартизованих по питомій площі поверхні ( $0,25 \text{ м}^2$ ), по їхній кількості ( $3,0 \cdot 10^{11}$ /шура) та по масі речовини (25 мг/шура) слід констатувати, що, незалежно від їхнього розміру та концентрацій, які досліджувалися, вони

викликали структурні зміни в цих клітинах та окремих зонах їхньої цитоплазми, котрі можна звести до трьох типів:

- а) підвищення функціональної активності нейронів, яке підтверджувалося частковим хроматолізом базofil'ної речовини і краєвою та перинуклеарною вакуолізацією цитоплазми та частковим її гіперхроматозом при збереженні структури ядра і ядерця (НЧ усіх кремнеземів, серії S, N, M);
- б) гальмування, зниження, або часткове припинення функціональної активності нейронів, про що свідчили краєвий або центральний хроматоліз базofil'ної речовини цитоплазми з частковим лізисом хроматину ядра, або різке гіперхромне забарвлення цитоплазми (НЧ усіх кремнеземів, серії S, N, M);
- в) дистрофічні та некробіотичні зміни, які проявлялися тотальним хроматолізом базofil'ної речовини в цитоплазмі з пікнозом ядра, яке розташоване ектопічно (4 міс, НЧ кремнеземів A100S, A300S, A100N), перинукле-

арним набряком, появою в цитоплазмі нейронів великих вакуолів, що призводило до ектопії ядра (4 міс, НЧ кремнезему A100M), зморщеними нейронами та нейронами-«тінями», як свідченням незворотності їхнього ушкодження (1 міс, НЧ кремнеземів A50S, A100S, A300S, A300N; 4 міс, НЧ кремнеземів A50M, A50S, A300M).

Важливо зазначити, що перші два типи зміни функціонального стану нейронів великих півкуль головного мозку в шурів супроводжувалися проліферацією нейрогліальних клітин, що, виходячи з їхньої захисної фізіологічної ролі відносно нейронів [4], свідчить, з одного боку, за наявність несприятливого хімічного впливу, а з іншого, за розвиток компенсаторно-приспосувальних процесів у центральній нервовій системі. Другий та третій типи структурних змін у нейронах поєднувалися зі зменшенням відносної кількості нейрогліальних клітин і значно частіше виявлялися в шурів через 1 та 4 міс експерименту, указуючи на посилення токсичного впливу НЧ на тканину мозку.

## Література

1. Body distribution of inhaled fluorescent magnetic nanoparticles in the mice / Jung-Taek Know, Soon-Kung Hwang, Hua Jin [et al.] // J. Occup. Health, – 2008.– V. 50, № 1.– P. 1–6.
2. Проблема норми у токсикології / під ред. І. М. Трахтенберга.– М.: Медицина, 1991.– 61 с.

## References

1. Jung-Taek Know, Soon-Kung Hwang, Hua Jin, et al. 2008, «Body distribution of inhaled fluorescent magnetic nanoparticles in the mice», J. Occup. Health, Vol. 50, no. 1, pp. 1–6.
2. Problems of the norm in toxicology. 1991, (ed. I. M. Trakhtenberg). Moscow: Meditsina, 61 p. (in Russian).

3. Волкова О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий.– М.: Медицина, 1982.– 304 с.

4. GFAP null astrocytes are a favorable substrate for neuronal survival and neurite growth / Veronique Menet, Minerva Gimenez Y Ribotta, Françoise Sandillon [et al.] // GLIA.– 2000.– № 31.– P. 267–272.

3. Volkova, O. V., Yeletsy, Y. K. 1982, Fundamentals of histology with histological engineering. Moscow: Meditsina, 304 p. (in Russian).

4. Veronique Menet, Minerva Gimenez Y Ribotta, Françoise Sandillon, [et al.]. 2000, «GFAP null astrocytes are a favorable substrate for neuronal survival and neurite growth», GLIA, no. 31, pp. 267–272.

**Диденко М. Н., Стежка В. А., Зинченко В. Н.**

## **ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕЙРОЦИТОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ИНТРАТРАХЕАЛЬНОЙ ИНСТИЛЛЯЦИИ НАНОЧАСТИЧЕК ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО АМОРФНОГО КРЕМНЕЗЕМА**

ГУ «Институт медицины труда НАМН Украины», г. Киев

*Вступлення.* Одним из наиболее опасных проявлений общетоксического действия различных по происхождению наночастиц (НЧ), независимо от источников и путей поступления в организм, является их транслокация во внутреннюю среду и распределение между органами, включая легкие, сердце, печень, селезенку, семенники и мозг. Относительно механизма проникновения НЧ в мозг дискутируются два возможных пути: 1) непосредственно через гематоэнцефалический барьер; 2) через назальные нервы.

**Цель исследования.** Изучить особенности токсикодинамического влияния НЧ высокодисперсного аморфного кремнезема разных размеров на морфофункциональное состояние нейроцитов головного мозга крыс после одноразовой интратрахеальной инстилляцией в виде суспензий.

**Материалы и методы исследований.** Исследования проведены на 128 крысах-самцах Вистар с исходной массой тела 190–200 г, которые были разделены на контрольную и три опытные группы. Исследовали морфофункциональное состояние нейроцитов глубоких слоев коры больших полушарий головного мозга крыс после однократной интратрахеальной инстилляцией под этиминаловым наркозом (3,0 мг/200 г массы тела) и НЧ высокодисперсного аморфного кремнезема трех размеров (A300 – 9 нм, A100 – 38 нм, A50 – 87 нм) в дозах, стандартизированных по: удельной площади поверхности (0,25 м<sup>2</sup>), что обеспечивало контакт НЧ с 25 % поверхности альвеол (серия S); их количеству (1000 НЧ/1 клетку альвеолярной поверхности легких, 3,0·10<sup>11</sup>/крысу, серия N); массе вещества (25 мг/крысу, серия M). Срезы глубоких слоев больших полушарий головного мозга крыс окрашивали гематоксилином и эозином и танином по Нисслеу.

**Результаты.** Установлено, что все НЧ, независимо от их размера и исследованных концентраций, вызывали структурные изменения в нейроцитах и отдельных зонах их цитоплазмы, которые можно свести к трем типам: а) повышение функциональной активности нейроцитов, которое подтверждалось частичным хроматолизом базофильного вещества и краевой и перинуклеарной вакуолизацией цитоплазмы, частичным ее гиперхроматозом при сохранении структуры ядра и ядрышка (НЧ всех кремнеземов, серии S, N, M); б) торможение, снижение или частичное прекращение функциональной активности нейроцитов, о чем свидетельствовали краевой или центральный хроматоз базофильного вещества цитоплазмы с частичным лизисом хроматина ядра, или резкое гиперхромное окрашивание цитоплазмы (НЧ всех кремнеземов, серии S, N, M); в) дистрофические и некробиотические изменения, которые проявлялись тотальным хроматолизом базофильного вещества в цитоплазме с пикнозом ядра, которое расположено эктопично (через 4 мес, НЧ кремнеземов A100S, A300S, A100N), перинуклеарным отеком, появлением в цитоплазме нейроцитов крупных вакуолей, что приводило к эктопии ядра (через 4 мес, НЧ кремнезема A100M), сморщенными нейроцитами и нейроцитами-«тенями», как свидетельством необратимости их повреждения (через 1 мес, НЧ кремнеземов A50S, A100S, A300S, A300N; через 4 мес, НЧ кремнеземов A50M, A50S, A300M). Первые два типа (а, б) изменения функционального состояния нейроцитов сопровождалась пролиферацией нейроглиальных клеток, что, исходя из их защитной физиологической роли по отношению к нейроцитам, свидетельствует, с одной стороны, о наличии неблагоприятного химического влияния, а с другой, о развитии компенсаторно-приспособительных процессов в центральной нервной системе. Второй и третий типы (б, в) структурных изменений в нейроцитах сочетались с уменьшением относительного количества нейроглиальных клеток и значительно чаще выявлялись у крыс через 1 и 4 мес эксперимента, указывая на усиление токсического влияния НЧ на ткань мозга.

**Заключение.** Получено подтверждение способности НЧ высокодисперсного аморфного кремнезема проникать через гематоэнцефалический барьер и оказывать повреждающее действие на ткань мозга.

**Ключевые слова:** нейроциты головного мозга, микроглия, наночастицы (9, 38, 87 нм), высокодисперсный аморфный кремнезем, интратрахеальная инстилляцией, крысы-самцы Вистар

**Didenko M. N., Stezhka V. A., Zinchenko V. N.**

## **STUDYING RAT'S BRAIN NEUROCYTES MORPHOFUNCTIONAL STATUS AFTER INTRATRACHEAL INSTILLATION OF HIGH DISPERSE AMORPHOUS SILICA**

SI «Institute for Occupational Health of NAMS of Ukraine», Kiev

**Introduction.** One of the most hazardous manifestations of the general action of nanoparticles (NP) of different origin, irrespective of their sources and ways of entering the body (with air, water, food, medicines, from clothes) is their translocation into internal environment and distribution between organs, covering lungs, heart, liver, spleen, testis and brain. As regards mechanism of their penetration into the brain, two possible ways are under discussion: directly through hematoencephalic barrier or through nasal nerves.

**Purpose of the work.** To study peculiarities of toxicodynamic effect of NP of high disperse amorphous silica of various size on the morphofunctional status of rat brain neurocytes after a single intratracheal instillations in suspensions.

**Materials and methods.** The studies were conducted in 128 Vistar male rats, 190-200 body weight, divided into the control and three test groups. The morphofunctional status of deep laminars of rat's cortex cerebri neurocytes after a single intratracheal instillation of high disperse amorphous silica nanoparticles (NP) (marks: A300 – 9 nm; A100 – 38 nm; A50 – 87 nm) under ethaminal narcosis (3,0 mg/200 g body weight), in the dose, standardized by the specific surface area (0,25 m<sup>2</sup>, providing the contact of NP with 25 % alveoli surface (series S); by the number of NP (3,0·10<sup>11</sup>/rat, Series N) and by the substance mass (25 mg/rat, Series M) were investigated. The sections of deep layers of brain large hemispheres were stained with hematoxylin-eosin and thionin by Nissle.

*Results.* It is established, that all NP, irrespective of their size and the tested concentrations, cause structural changes in neurocytes and separate zones of their cytoplasm, which can be presented by 3 types: a) the enhancement of neurocyte functional activity, confirmed by the partial chromatolysis of the basophilic material and marginal and perinuclear vacuolization of the cytoplasm, its partial hyperchromatolysis in preservation of the structure of the nucleus and nucleolus (NP of all silica, series S, N, M); b) the inhibition, reduction or partial cessation of neurocyte functional activity, indicated by marginal or central chromatolysis of the basophilic substance of the cytoplasm with its partial lysis of nuclear chromatin or sharp cytoplasm hyperchromic staining (NP of all silica, series S, N, M); c) the dystrophic and necrobiotic changes, manifested by the total chromatolysis of the basophile substance in the cytoplasm with nucleus pyknosis in the ectopic position (in 4 months, cilica NP A100S, A300S, A100N), by perinuclear edema, occurrence of large vacuoles in the neurocyte cytoplasm, resulting in nucleus ectopia (in 4 months, cilica NP A100M), contracted neurocytes and neurocyte-“shades”, showing irreversibility of their damage (in 1 month, NP cilica A50S, A100S, A300S, A300N; in 4 months, cilica NP A50M, A50S, A300M). The first two types (a, b) of changes of the functional state of neurocytes were followed by proliferation of neuroglial cells, which show, under their physiological part, on one side - the availability of the unfavourable chemical effect, on the other side - development of compensatory-adaptation processes in the central nervous system. The second and the third types (b, c) of structural changes in neurocytes showed the decrease in the relative number of neuroglial cells and were found most often in rats in 1 and 4 months after the experiment, indicating the enhancement of the toxic effect of NP on the brain tissue.

*Conclusion.* The ability of NP of high disperse amorphous cilica to penetrate through the hematoencephalic barrier and cause a damaging effect on the brain tissue has been confirmed.

**Key words:** brain neurocytes, microglia, nanoparticles (9, 38, 87 nm) of high disperse amorphous cilica, intratracheal instillation, Vistar male rats

*Надійшла:* 18.11.2013 р.

**Контактна особа:** Діденко М. М., ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: +38 0 44 284 34 27.