

УДК 616.61-008-091:612.08

С. Зінабадінова, асп., Ю. Чайковський, д-р мед. наук  
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ,  
Т. Сегеда, д-р біол. наук  
Київський університет імені Бориса Грінченка, Київ

## ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК КУРЯЧИХ ЕМБРІОНІВ ПРИ ДІЇ ВОЛОКОН АЗБЕСТУ ТА ВУГЛЕЦЕВИХ НАНОВОЛОКОН

*У сучасному світі виробляється величезна кількість речовин та матеріалів, їх вплив на організми, що розвиваються, залишається нез'ясованим. Структурна подібність вуглецевих нановолокон та волокон азбесту викликає серйозні хвилювання щодо їх безпечності. Як органи детоксикації, нирки, привертають особливу увагу. В статті досліджено токсичний вплив, який чинять вуглецеві нановолокна та волокна азбесту на тканини нирок. В дослідженні продемонстровано, що вуглецеві нановолокна потенційно здатні поводити себе як волокна азбесту. Вони викликають значні порушення нормальної структури тканин нирок курячих ембріонів. Нами були задокументовані паренхіматозні та змішані дистрофії, десквамації епітелію. Проведені комплексні (гістологічні та морфо метричні) дослідження демонструють, що азбест становить найбільшу небезпеку.*

**Ключові слова:** азбест, нирки, вуглецеві нановолокна, курячий ембріон.

**Вступ.** На сьогоднішній день в усьому світі зростає увага до розвитку нанотехнологій. Одними із найперспективніших є волокнисті вуглецеві наноматеріали. Враховуючи, що обсяги їх виробництва постійно розширюються, і надалі очікується тісний контакт людини та інших біологічних об'єктів із наночасточками, вивчення потенційних ризиків їх використання розглядається в якості одного з першочергових завдань [1]. Аналогічна ситуація, проте з природним волокнистим матеріалом – азбестом, спостерігалась в минулому у зв'язку з його активним впровадженням у будівництво та інші сфери людської діяльності. Ентузіазм світової спільноти різко впав після виявлення канцерогенних властивостей цього матеріалу. Тож цілком закономірно, що все більше дослідників працюють над проблемою порівняння біологічних ефектів і властивостей азбесту та вуглецевих нановолокон – найближчого структурного аналога азбесту серед наноматеріалів [2].

Відомі на сьогодні дослідження негативних впливів азбесту на живі організми стосуються переважно пневмоконіозів – хронічних захворювань легень, зумовлених тривалим вдиханням пилу. Вважається, що довжина та форма азбестового волокна визначають його фізичні властивості і біологічну агресивність. Так, волокна азбесту амфіболового типу більш щільні, довгі, практично не розчиняються в кислотах та біологічних рідинах. Хризотилітовий азбест вважають інертним щодо живих організмів, оскільки його волокна "м'якші" за амфіболові, розчиняються у біологічних рідинах, краще виводяться з організму [3-5].

З огляду на відмічену специфіку вивчення патогенної дії азбесту, більшість відомих на сьогодні досліджень щодо порівняння його біологічних впливів з вуглецевими наноматеріалами стосуються змін у дихальній системі [6]. Проте у літературі зустрічаються поодинокі документування фактів спроможності азбесту проникати через біологічні бар'єри, спричинити злякисні переродження у шлунково-кишковому тракті [7], у жіночій статевій системі [8], та викликати рак гортані [9]. Для вуглецевих нановолокон також існують беззаперечні підтвердження їх високої проникаючої здатності, тобто можливості легко проходити крізь мембрани клітин та долати різні біологічні бар'єри [10].

Отож, наголосимо на відсутності необхідного об'єму знань та доцільності розширення сфери вивчення біо-

логічних ефектів, спричинених дією азбесту і вуглецевих наноматеріалів.

**Матеріали і методи.** Експеримент здійснено на курячих ембріонах, інкубованих з яєць лінії Хай-Лайн. Матеріал був розділений на три групи:

I група – контрольна (КГ), Об'єктам (у кількості 43 штуки) вводили суспензію біосумісного декстрану.

II група – експериментальна (ЕГ-Х). Об'єктам (у кількості 19 штук) вводили суспензію хризотилітового азбесту.

III група – експериментальна (ЕГ-НВ). Об'єктам (у кількості 35 штук) вводили суспензію вуглецевих нановолокон.

Використана біологічна модель розроблена за методикою В.П. Терещенко, патент України №49464. Об'єктам на третю добу інкубації (терміни зумовлені закономірностями розвитку кровоносної системи) вводили суспензії волокон азбесту або вуглецевих нановолокон на біосумісному декстрані. Радова підтримуюча доза активованого вугілля для дорослої людини вагою 70 кг складає 1,0 г. З урахуванням середньої ваги жовтка яйця (22 г) ми вираховували дозу для введення у жовтковий мішок зародка:  $22 \times 1:70 \cdot 000 = 0,31$  мг. Стерилізація матеріалу здійснювалась за  $t^\circ 120^\circ\text{C}$  впродовж 60 хвилин. Кількість рідини, що вводилася (0,2 мл) є допустимою для введення у експериментах з курячими зародками. Відбір зародків проводили на 20 добу інкубації. Морфологічна верифікація здійснювалась на забарвлених гематоксиліном і еозином гістологічних препаратах печінки. Для вивчення біологічних ефектів, спричинених інтродукованими волокнами, були обрані такі органи зародка, як нирки, оскільки за участю саме цих структур відбуваються основні процеси детоксикації та виведення шкідливих речовин з організму курячого ембріону. Результати були піддані статистичній обробці за допомогою U-критерію Манна-Уїтні.

**Результати та їх обговорення.** Гістологічні дослідження препаратів тканин нирок виявили значні структурні порушення у морфології даного органу, що спостерігались в експериментальних групах. Природа цих змін в цілому мала дистрофічний характер. Особливо деградаційним процесам підлягав епітелій каналців нирок, причому при плановому огляді дистрофічні зміни епітелію звивистих каналців носили більш тяжкий ступінь, аніж зміни епітелію прямих каналців (рис. 1).

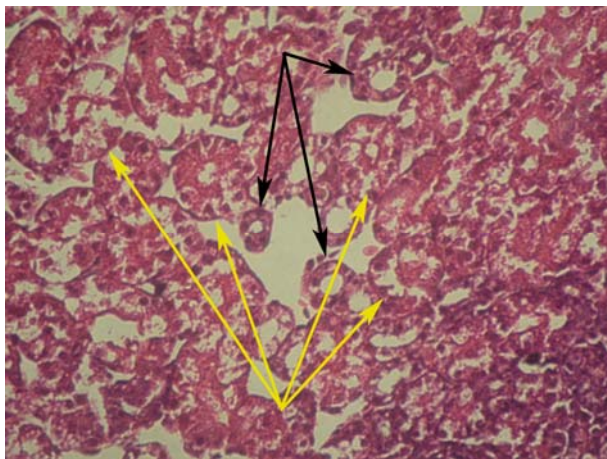


Рис. 1. Мікрофотографія тканини нирок 20-денного зародка EG-NB. Жовті стрілки – звивисті ниркові каналі, чорні стрілки – прямі каналці. Забарвлення гематоксином і еозином, об. 40х, ок. 10х.

До патологічних змін епітелію, характерних для обох експериментальних груп, можна віднести різко означену гідропічну (вакуольну) дистрофію. Були присутні базальний та апікальний набряк клітин епітелію.

із частковою або повною деградацією плазмалемі клітин. У експериментальній групі із введенням азбесту відмічалось відкладення кальцінатів в просвітах ниркових каналців (рис. 2).

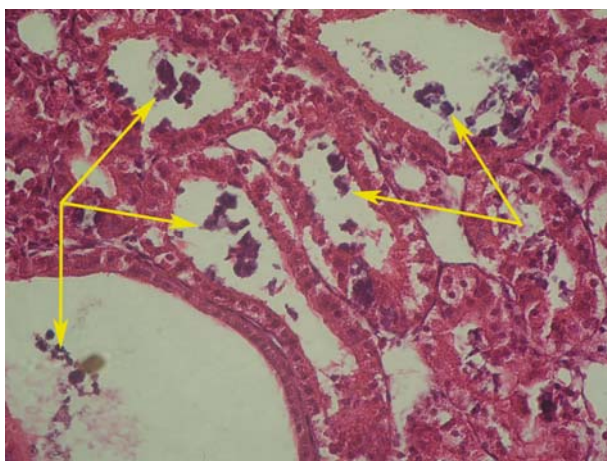


Рис. 2. Мікрофотографія тканин нирок 20-денного зародка EG-X. Стрілками показані кальцифікати у просвіті ниркових каналців. Забарвлення гематоксином і еозином, об. 40х, ок. 10х.

Отже за результатами досліджень виявлені патологічні зміни, індуковані дією часточок, в обох експериментальних групах мали переважно дистрофічний характер. Зміни морфо-функціонального стану тканин нирок, викликані дією нановолокон, мали менший прояв, ніж у групі із введенням азбесту, та були однотипного характеру: спостерігались ознаки білкової зернистої та гідропічної дистрофії епітелію ниркових каналців. Особливостями патологічних змін в експериментальній групі із введенням часточок азбесту стало накопичення кальцінатів в просвіті ниркових каналців.

Після проведення гістологічного дослідження тканин нирок ембріонів були відмічені значні порушення мор-

фології ниркових каналців. Для того, щоб мати змогу оцінити та порівняти ступінь пошкоджень, спричинених дією нановолокон та азбесту, були задіяні морфометричні методики. Для усіх груп були виміряні показники площі епітелію прямих та звивистих ниркових каналців, і на основі статистичної обробки результатів були зроблені наступні висновки.

Порівняльний аналіз площі епітелію звивистих каналців виявив достовірні відмінності за даним показником у всіх експериментальних групах порівняно із результатами контролю (таблиця 1).

Таблиця 1. Порівняльний аналіз площі епітелію звивистих ниркових каналців у зародків контрольної та експериментальних груп

| Назва групи | Медіана з довірчим інтервалом для середнього, мкм <sup>2</sup> |
|-------------|--|
| Контрольна  | 11221±3366   |
| EG-X        | 23703±7111*  |
| EG-NB       | 10725±3217*  |

Примітка: тут і далі \* - різниця між контрольною та експериментальною групою вірогідна при  $p \leq 0,05$ .

У групі із введенням азбесту відмічалось збільшення середнього значення площі епітеліоцитів більш ніж у

два рази, порівняно з контрольною групою. Окрім того, у цій групі спостерігалась значна дисперсія цього пока-

зника. Спираючись на результати гістологічного дослідження, збільшення площі епітелію можна пояснити за рахунок значної вакуолізації клітин, що мала місце в ЕГ-Х із введенням азбесту. Отримані результати свідчать про значну деструктивну дію волокон азбесту на епітелій, а також передбачають вагомий вплив на процеси фільтрації ще й за рахунок звуження просвіту ниркових каналців. Результати морфометричного аналізу площі епітелію ниркових каналців у ЕГ-НВ із введенням нановолокон показали певне зменшення середнього значення цього показника порівняно з контролем. Також була відмічена достовірна різниця між даними значеннями для експериментальних груп із введенням азбесту та нановолокон, що беззаперечно свідчить про

різний ступінь дії, яку чинять волокна азбесту та нановолокна на епітелій звивистих ниркових каналців.

Морфометричний аналіз площі епітелію прямих ниркових каналців виявив достовірні відмінності за даним параметром при порівнянні показників ЕГ-Х із введенням азбесту та контрольною групою (було відмічено збільшення площі епітелію в ЕГ-Х більш ніж у 2,5 рази), а також при порівнянні середніх значень даного показника серед ЕГ із введенням азбесту та нановолокон (спостерігалось збільшення площі епітелію у 2,8 рази у групі із введенням азбесту). Статистична обробка даних вимірювання площі епітелію прямих ниркових каналців в ЕГ-НВ із введенням нановолокон не виявила значущих відмінностей порівняно з контрольною групою. Результати морфометричних досліджень представлені в таблиці 2.

**Таблиця 2. Порівняльний аналіз площі епітелію прямих ниркових каналців у зародків контрольної та експериментальних груп**

| Назва групи | Медіана з довірчим інтервалом для середнього, мкм <sup>2</sup> |
|-------------|--|
| Контрольна  | 3543±1119  |
| ЕГ-Х        | 9476±2842*   |
| ЕГ-НВ       | 3409±1367  |

### Висновки.

На підставі аналізу отриманих експериментальних даних можна зробити наступні висновки:

1. Вуглецеві нановолокна та волокна азбесту викликають значні порушення нормальної структури тканин нирок курячих ембріонів.

2. Для обох експериментальних груп характерні набряки досліджуваних органів, а також прояви паренхіматозних (білкових) дистрофій.

3. Відмінними ознаками тератогенного впливу азбесту на курячі ембріони є розвиток змішаних дистрофій (утворення кальцифікатів).

4. За даними комплексних (гістологічних та морфометричних) досліджень документовано більшу виразність руйнівного впливу на органи детоксикації волокон азбесту порівняно з нановолокнами.

### Список використаних джерел

1. Картель М.Т. Концепція методології ідентифікації та токсичних досліджень наноматеріалів і оцінки ризику для людського організму та довкілля при їх виробництві та застосуванні / М.Н. Картель, В.П. Терещенко // Хімія, фізика і технологія поверхності. – Вып.14. – К.: Наукова думка, 2008. – С. 565-583.

2. Asbestos-like Pathogenicity of Long Carbon Nanotubes Alleviated by Chemical Functionalization / Hanene Ali-Boucetta, Antonio Nunes, Raquel Sainz [et.al.] // Angewandte Chemie International Edition. – 2013. – Vol. 52, №8. – P. 2274-78.

3. Гігієнічні проблеми використання хризотилового азбесту в Україні / Ю.І. Кундієв, В.І. Чернюк, Т.К. Кучерук, А.Н. Каракашян // Гігієна і санітарія. – 2008. – Т.4, №16. – С. 116-124.

4. Greillier L. Mesothelioma and asbestos-related pleural diseases // Respiration. – 2008. – Vol. 76, №1. – P. 3-15.

5. Pfau J.C. Directions and needs in asbestos research / J.C. Pfau, M. Pershouse, E.A. Putnam // Immunotoxicol. – 2008. – Vol. 2, №5. – P. 123-127.

6. The toxicological impact of nanoparticles / S.E. Miles, A. Sandrini, A.R. Johnson [et.al.] // Occup. Med. Toxicol. – 2008. – Vol. 8, №3. – P. 201-212.

7. Chrysotile-asbestos induces cytogenetic effects in the rat's mesothelium in vitro and in vivo / L.N. Pylev, O.V. Smirnova, L.A. Vasileva [et.al.] // Гігієна і санітарія. – 2014. – №2. – С. 97-100.

8. Rai A.J. Association of malignant mesothelioma and asbestos related conditions with ovarian cancer: shared biomarkers and a possible etiological link // Chem Lab Med. – 2011. – V. 49, №1. – P. 5-17.

9. Sturgis E.M. Asbestos exposure and laryngeal cancer // Ear Nose Throat J. – 2010. – Vol. 89, №3. – P. 104.

10. Barua S. Challenges associated with Penetration of Nanoparticles across Cell and Tissue Barriers: A Review of Current Status and Future Prospects / S. Barua, S. Mitragotri // Nano Today. – 2014. – Vol 9, №2. – P. 223-243.

Надійшла до редколегії 22.12.15

С. Зинабадинова, асп., Ю. Чайковский, д-р мед. наук  
Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина,  
Т. Сегада, д-р биол. наук  
Киевский университет имени Бориса Гринченка, Киев, Украина

## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВОЛОКОН АСБЕСТА И УГЛЕРОДНЫХ НАНОВОЛОКОН

*В современном мире производится огромное количество веществ и материалов, влияние которых на развивающиеся организмы остается невыясненным. Очевидное структурное сходство углеродных нановолокон и волокон асбеста вызывает серьезные опасения по поводу их безопасности. Изучение почек, как органов детоксикации, особенно важно. В данной статье исследовано токсическое влияние, которое оказывают углеродные нановолокна и волокна асбеста на ткани почек. В исследовании продемонстрировано, что углеродные нановолокна потенциально способны вести себя как асбестовые волокна. Они вызывают значительные нарушения нормальной структуры тканей почек куриных эмбрионов. Мы задокументировали паренхиматозные и смешанные дистрофии, десквамации эпителия. Проведенные комплексные (гистологические и морфометрические) исследования демонстрируют, что асбест является наиболее опасным.*

*Ключевые слова:* асбест, почки, углеродные нановолокна, куриный эмбрион.

S. Zinabadinova, PhD stud., Yu. Tchaikovsky, MD  
Bogomolets national medical university, Kyiv, Ukraine,  
T. Segeda, DSc  
Borys Grinchenko Kyiv University, Kyiv, Ukraine

## FEATURES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CONDITIONS OF CHICKEN EMBRYO KIDNEYS WHICH ARE CAUSED BY ASBESTOS FIBERS AND CARBON NANOWIRES

*There is a great number of substances and materials produced nowadays but their influence on the developing organisms remains unclear. The apparent structural link between carbon nanowires and asbestos fibers has generated serious doubts about their safety profile. As a detoxifying organs, kidneys become particularly important. In this study we investigate the toxic effects of asbestos fibers and carbon nanowires on kidneys tissues. Our research demonstrate that carbon nanowires have the potential to behave like asbestos fibers. They cause considerable disruption of normal kidney tissues structure of chick embryos. We documented the parenchymal and mixed dystrophy, epithelial desquamation. The carried out complex (histologic and morphometric) studies show that the fibers of asbestos poses the greatest danger.*

*Keywords:* asbestos, kidneys, carbon nanowires, chicken embryo.