

УДК 57.043, 615.916

**ВЛИЯНИЕ НАНО- И МИКРОЧАСТИЦ ЦЕОЛИТОВ НА
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПОЧЕК МЫШИ
ДОМАШНЕЙ MUS MUSCULUS**© 2010 К.С. Голохваст^{1,3}, Н.Н. Киселев¹, А.М. Паничев², П.А. Никифоров¹,
А.А. Ведягин⁴, И.В. Мишаков⁴, И.Э. Памирский⁵, А.Н. Гульков^{1,6}¹ Дальневосточный государственный технический университет, Владивосток² Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Владивосток³ НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения СО РАМН,
Владивосток⁴ Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск⁵ Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск⁶ ЗАО ДВНИПИ нефтегаз, Владивосток

Поступила в редакцию 16.11.2010

В работе представлены результаты исследования влияния цеолитов Вангинского, Люльинского, Куликовского, Шивертуйского, Холинского месторождений на морфометрические параметры клеток почек мышцы *Mus musculus*. Выявлены этапы образования патогенных органоминеральных агрегатов. Показано, что наночастицы всех 5 месторождений цеолитов, взятых в эксперимент, в дозировке 3-5% от массы тела и размере от 100 нм до 1 мкм являются нефротоксичными.

Ключевые слова: *наночастицы, микрочастицы, цеолиты, мышья домашняя*

Минералы присутствуют в зоне обитания живых организмов на нашей планете во всех гранулометрических формах и размерах. Так, например, минеральные наночастицы присутствуют в космосе, атмосфере, гидросфере, горных породах и магмах [2, 16]. В литературе имеются противоречивые сообщения по поводу токсичности частиц минералов [1, 5-8, 10-15, 17, 18, 22, 26]. Во многих из перечисленных работ приведены результаты биомедицинского исследования минералов (наиболее часто – цеолитов), но не указаны размеры частиц, время обработки и другие гранулометрические параметры.

Голохваст Кирилл Сергеевич, кандидат биологических наук, заместитель директора Института нефти и газа. E-mail: drooru@mail.ru

Киселев Николай Николаевич, соискатель

Паничев Александр Михайлович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и охраны животных

Никифоров Павел Александрович, кандидат технических наук, старший преподаватель кафедры технологии металлов и металловедения

Ведягин Алексей Анатольевич, кандидат химических наук, ученый секретарь, старший научный сотрудник

Мишаков Илья Владимирович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Памирский Игорь Эдуардович, кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологической химии с курсом биоорганической химии

Гульков Александр Нефедович, доктор технических наук, профессор, директор Института нефти и газа

Цель данного исследования: изучение особенностей гистологического строения почек при пероральном введении цеолитов разных месторождений и при трех видах измельчения.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе НОЦ «Природные и синтетические наноматериалы» (создан совместно Дальневосточным государственным техническим университетом и Институтом катализа им. Г.К. Борескова СО РАН). В эксперимент были взяты цеолиты Люльинского, Вангинского, Куликовского, Холинского и Шивертуйского месторождений. Все минералы, согласно нашей методике [19], измельчались в дробилке ВКДМ-6 (Вибротехника, Россия) (фракция от 20-50 мкм до 1 мм), в ультразвуковом гомогенизаторе Bandelin Sonopuls 3400 (Bandelin, Италия) (до фракции около 5-10 мкм) и в планетарной мельнице Fritch Pulverisette 4 (Fritch, Германия) (до размеров от 100 нм до 1 мкм). Мыши получали цеолит перорально в дозировке 3-5% от массы тела. Животные были разделены на 16 экспериментальных групп по 8 штук в каждой, в том числе: «Контроль» – животные, которые не получали цеолит; «Куликов-м», «Куликов-у», «Куликов-н» – мыши, которые получали цеолиты Куликовского месторождения после механической, ультразвуковой и планетарной обработки соответственно; «Вангин-м», «Вангин-у», «Вангин-н» – получали цеолиты Вангинского месторождения с аналогичной обработкой; «Люльин-м», «Люльин-у», «Люльин-н» – получали цеолиты Люльинского

месторождения с аналогичной обработкой; «Шивертуй-м», «Шивертуй-у», «Шивертуй-н» – получали цеолиты Шивертуйского месторождения с аналогичной обработкой; «Холин-м», «Холин-у», «Холин-н» – получали Холинские цеолиты с аналогичной обработкой.

После опытных мероприятий забирался материал для исследования в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» от 12.08.77. Из собранного материала делались полутонкие срезы ткани почек, которые окрашивались гематоксилин-эозином. Фотографирование препаратов проводилось на микроскопе Zeiss Axio Imager A1 (Zeiss, Германия). Статистическая обработка

велась с использованием программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel. Оценку достоверности различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Морфометрия эпителиоцитов почечных канальцев в группах животных с механическим и ультразвуковым измельчениями цеолитов не выявила достоверных изменений по сравнению с нормой. Выраженные изменения в паренхиме почек наблюдаются в группах с измельчением цеолитов в планетарной мельнице до нанодиапозона. Так, в группе «Шивертуй-н» в структуре почек наблюдаются некротические изменения и повышенная вакуолизация эпителиоцитов по сравнению с нормой.

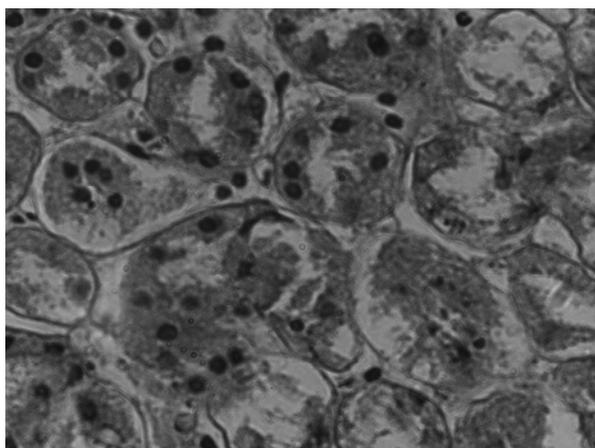
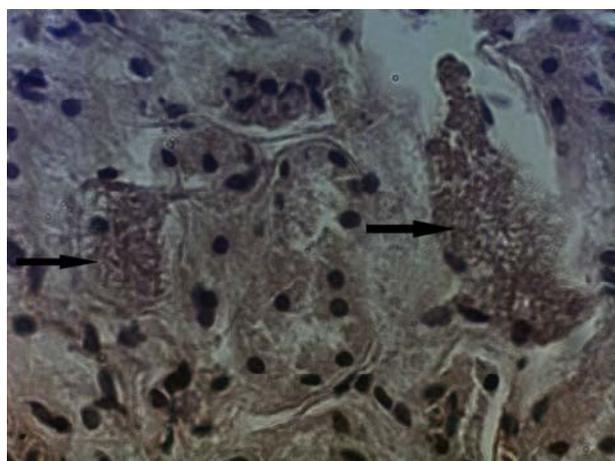


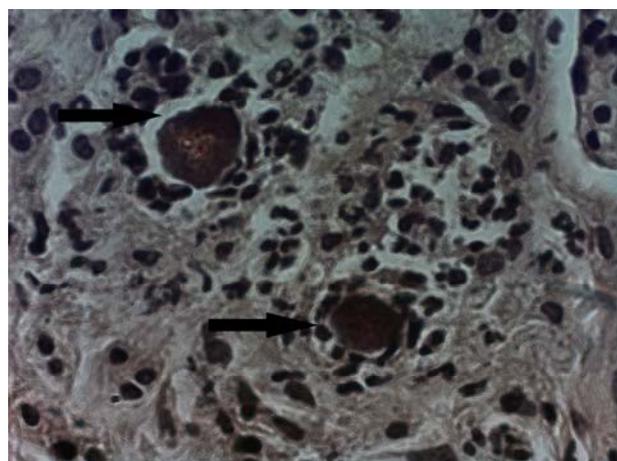
Рис. 1. Гистологическое строение паренхимы почек при введении цеолитов Шивертуйского месторождения в нанодиапозоне. Видны некротические изменения ткани. Увеличение $\times 1000$.

Стоит отметить, что в паренхиме почек при введении наночастиц цеолитов Шивертуйского месторождения нами были обнаружены формирующиеся конкременты не установленного состава. Мы предполагаем, что нам удалось зафиксировать стадии процесса биоминералогенеза органоминерального агрегата (рис. 2А и Б). На рис. 2А видны кристаллические структуры с

выраженной абиогенной геометрией. Маловероятно, что два образования, указанные стрелками на рис. 2Б, имеющие размеры 16,52 и 14,73 мкм проникли в почечную ткань из кровеносного русла. Морфометрические параметры эпителиоцитов в группах «Контроль» и группах с наноизмельченными цеолитами приводятся в таблице.



А



Б

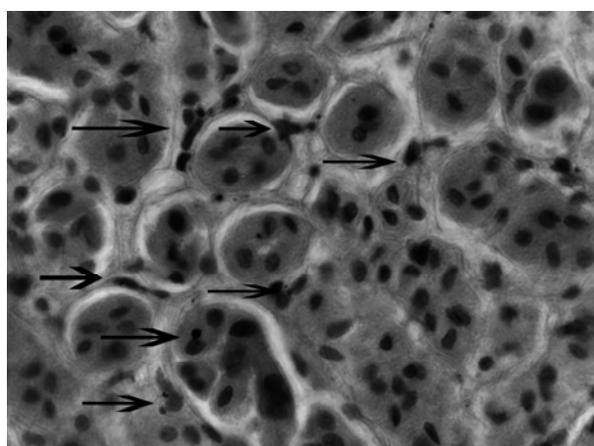
Рис. 2. А) Стадия начального образования органоминерального агрегата (показано стрелками) в паренхиме почек у животных, получавших наночастицы цеолитов Шивертуйского месторождения. Увеличение $\times 1000$. Б) Сформировавшиеся конкременты (показано стрелками) в паренхиме почек у животных, получавших наночастицы цеолитов Шивертуйского месторождения. Увеличение $\times 1000$.

Данные морфометрии говорят о токсическом поражении мочевыводящей системы вследствие прямого действия наночастиц всех месторождений, предположительно из-за повышенного содержания в крови продуктов перекисного

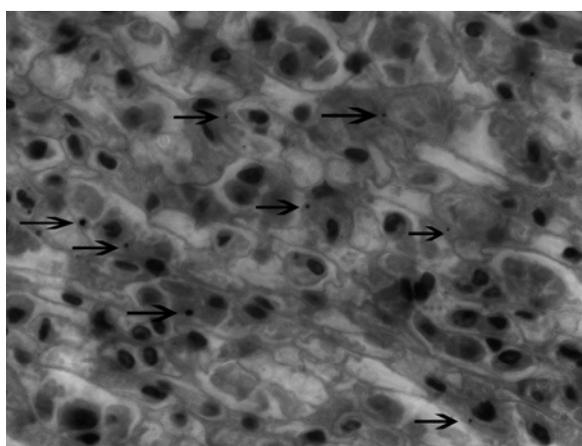
окисления липидов, как основного механизма токсичности наночастиц [3, 4, 8, 9]. Стоит особо отметить обнаружение свободных наночастиц цеолитов в паренхиме почек (рис. 3А и Б).

Таблица. Морфометрические параметры эпителиоцитов почечных канальцев в разных экспериментальных группах

Группа/параметр	Длина ядра, мкм	Ширина ядра, мкм	Площадь ядра, мкм ²	Длина клетки, мкм	Ширина клетки, мкм	Площадь клетки, мкм ²
Контроль	4,92±0,41	5,34±0,52	20,75±2,26	8,99±0,97	10,16±0,82	80,25±5,43
Шивертуй-н	3,99±0,25	3,23±0,36	14,14±1,54	8,34±0,77	7,44±0,87	66,67±6,23
Люльин-н	3,87±0,12	3,73±0,23	11,98±1,24	10,82±1,09	9,23±0,86	72,29±4,44
Куликов-н	4,03±0,37	3,36±0,28	13,59±1,22	7,22±0,68	7,38±0,73	54,16±4,67
Вангин-н	4,92±0,33	4,35±0,32	19,65±2,21	8,57±0,82	9,78±0,77	73,34±4,12
Холин-н	4,66±0,32	3,14±0,27	12,96±1,44	9,26±0,87	6,63±0,54	58,68±3,98



А



Б

Рис. 3. А) Наночастицы цеолитов (отмечены стрелками) Люльинского месторождения в паренхиме почек. Увеличение x1000. Б) Наночастицы цеолитов Холинского месторождения (отмечены стрелками) в паренхиме почек. Видны некротические изменения ткани. Увеличение x1000.

Средние размеры, обнаруженных в паренхиме почек частиц цеолитов от 0,2 до 2,5 мкм. Стоит особо отметить, что по данным морфометрии, наночастицы цеолитов Куликовского и Холинского месторождения показали наибольшую токсичность (некрозы на рис. 3Б), а наночастицы Люльинского месторождения наименьшую среди всех опробованных нами. Образцы наноминералов Вангинского и Шивертуйского месторождений были умеренно токсичны.

Выводы: наиболее реакционной активностью, вплоть до токсического поражения, обладают частицы цеолитов в нанодиапозоне. Судя по полученным результатам размер частиц обратно пропорционален токсическому действию (чем мельче, тем токсичнее). Выявленные свойства частичек цеолита можно объяснить меняющимися при измельчении их физико-химическими свойствами, в частности, изменением на поверхности кристаллической решетки электрического заряда, который при измельчении до нанодиапозона возрастает до критических значений

[20, 21, 23-25]. Можно сделать также предварительный вывод о том, что наночастицы цеолитов разных месторождений обладают разным токсическим действием.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа У.М.Н.И.К.), грантов СО РАН ПСО-10 №114 и ДВО РАН 09-П-СО-05-002.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Амосов, Р.А. Минералы-убийцы / Р.А. Амосов, С.С. Дзуреченская // Руды и металлы. 1992. №1. С. 152-155.
2. Богатиков, О.А. Неорганические наночастицы в природе // Вестник РАН. 2003. Т. 73, № 5. С. 426-428.
3. Бунятян, Н.Д. Современное состояние и перспективы развития нанотоксикологии / Н.Д. Бунятян и др. // Фармация. 2008. №8. С. 3-5.
4. Глушкова, А.В. Нанотехнологии и нанотоксикология – взгляд на проблему / А.В. Глушкова и др. // Токсикологический вестник. 2007. № 6. С. 4-8.
5. Даугель-Дауге, Н.О. Зависимость кластогенной активности цеолита от размеров пылевых частиц и наличия кальция / Н.О. Даугель-Дауге и др. // Токсикологический вестник. 2001. №5. С. 11-13.

6. Дурнев, А.Д. Исследование мутагенного действия пыли природных цеолитов и хризотил-асбеста / А.Д. Дурнев и др. // Эксперим. онкол. 1990. Т. 12, №2. С. 21-24.
7. Дурнев, А.Д. Отдаленные последствия мутагенного действия хризотил-асбеста и цеолита *in vivo* / А.Д. Дурнев и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1993. №115(5). Р. 484-486.
8. Дурнев, А.Д. Токсикология наночастиц // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2008. Т. 145, № 1. С. 78-80.
9. Колесниченко, А.В. Токсичность наноматериалов – 15 лет исследований / А.В. Колесниченко и др. // Российские нанотехнологии. 2008. Т. 3, №3-4. С. 54-61.
10. Коркина, Л.Г. Сравнительная характеристика цитотоксических свойств природных цеолитов // Гигиена труда и профессиональные заболевания. 1984. №12. С. 49-50.
11. Коркина, Л.Г. Механизм цитотоксического действия натурального цеолита клиноптилолита / Л.Г. Коркина и др. // Фармакология и токсикология. 1984. №47(5). Р. 63-67.
12. Кураמיшина, Н.Г. Южноуральские цеолиты – экобезопасность и влияние на организм птицы, сельскохозяйственных животных / Н.Г. Кураמיшина и др. – Издательство БашГАУ, 2007. 248 с.
13. Пылев, Л.Н. Анализ биологической агрессивности цеолитов различных месторождений РФ / Л.Н. Пылев и др. // Природные минералы на службе человека: Материалы науч.-практич. конф. – Новосибирск, 1999. С. 68-70.
14. Пылев, Л.Н. Канцерогенная безопасность цеолита Холлинского месторождения / Л.Н. Пылев и др. // Гигиена и санитария. 2003. № 2. С. 53-56.
15. Середенин, С.Б. Мутагены (Скрининг и фармакологическая профилактика воздействий) / С.Б. Середенин, А.Д. Дурнев. – М.: Медицина, 1998. 328 с.
16. Трубецкой, К.Н. Техногенные минеральные наночастицы как проблема освоения недр / К.Н. Трубецкой и др. // Вестник РАН. 2006. Т. 76, № 4. С. 318-332.
17. Фекличев, В.Г. Ряды токсичности минералов и соединений – их аналогов // В кн.: Минералогическо-геохимические аспекты охраны окружающей среды. Тезисы к совещанию 26-28 ноября 1991 г. Санкт-Петербург, 1991. С. 58-59.
18. Фекличев, В.Г. Опыт токсикологической классификации минералов // В кн.: Медицинская минералогия. Материалы к 12 региональной минералогической школе «Топоминералогические аспекты медицинской минералогии», Сыктывкар, 1991. С. 12-15.
19. Golokhvast, K.S. A method of comminuting natural zeolite for the production of biologically active additives / K.S. Golokhvast et al. // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2010. V. 44, №2. P. 85-88.
20. Hoetm, P.H.M. Nanoparticles – known and unknown health risks / P.H.M. Hoet et al. // Journal of Nanobiotechnology. 2004. №2. P. 12.
21. Holsapple, M.P. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part II: toxicological and safety evaluation of nanomaterials, current challenges and data needs / M.P. Holsapple et al. // Toxicological Sciences. 2005. V. 88 (1). P. 12-17.
22. Ilgren, E.B. A reconnaissance study of a potential emerging mexican mesothelioma epidemic due to fibrous zeolite exposure / E.B. Ilgren et al. // Indoor and Built Environment. 2008. №17(6). P. 496-515.
23. Maynard, A. Nanotechnology: A research strategy for addressing risks. 310 p.
24. Nel, A. Toxic potential of materials at the nanolevel / A. Nel et al. // Science. 2006. V. 311 (5761). P. 622-627.
25. Service, R.F. American Chemical Society meeting. Nanomaterials show signs of toxicity / R.F. Service // Science. 2003. №300. P. 243.
26. Thomas, J.A. Toxicological assessment of zeolites / J.A. Thomas, B. Ballantyne // J. of the American College of Toxicology. 1992. V. 11, №3. P. 259-273.

INFLUENCE OF NANO- AND MICROPARTICLES OF ZEOLITES ON MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF NEPHROS AT HOUSE MOUSE MUS MUSCULUS

© 2010 K.S. Golokhvast^{1,3}, N.N. Kiselev¹, A.M. Panichev², P.A. Nikiforov¹, A.A. Vedyagin⁴, I.V. Mishakov⁴, I.E. Pamirskiy⁵, A.N. Gulkov^{1,6}

¹ Far East State Technical University, Vladivostok

² Pacific Institute of Geography RSB RAS, Vladivostok

³ Scientific Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation FEB RAMS, Vladivostok

⁴ Institute of Catalysis named after G.K. Boreskov SB RAS, Novosibirsk

⁵ Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk

⁶ JSC DVNIPI neftegas, Vladivostok

In work results of research the influence of zeolites from Vanginsky, Lyulyinsky, Kulikovsky, Shivertuysky, Holsinsky deposits on morphometrical parameters of nephros cells at mouse *Mus musculus* are presented. Stages of formation pathogenic ofranic-minerals aggregates are determined. It is shown, that nanoparticles from 5 deposits of zeolites, taken in experiment, in dosage of 3-5% from body mass and the size from 100 nanometers up to 1 micron are nephros toxic.

Key words: *nanoparticles, microparticles, zeolites, house mouse*

Kirill Golokhvast, Candidate of Biology, Deputy Director of Oil and Gas Institute. E-mail: droopy@mail.ru

Nikolay Kiselev, Post-graduate Student

Alexander Panichev, Doctor of Biology, Leading Research Fellow at the Laboratory of Ecology and Animal Protection

Pavel Nikiforov, Candidate of Technical Sciences, Senior Lecturer at the Department of Metals Technology and Metallurgical Science

Aleksey Vedyagin, Candidate of Chemistry, Scientific Secretary, Senior Research Fellow

Iliya Mishakov, Candidate of Chemistry, Senior Research Fellow

Igor Pamirskiy, Candidate of Biology, Assistant at the Department of Biochemistry with the Course of Bioorganic Chemistry

Alexander Gulkov, Doctor of Technical Sciences, Professor, Director of Oil and Gas Institute