

УДК 615.099

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАЗНЫХ ТИПОВ УГЛЕРОДНЫХ НАНОВОЛОКОН НА НЕКОТОРЫЕ ВНУТРЕННИЕ ОРГАНЫ (ПОЧКИ, СЕЛЕЗЕНКА) КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР

© 2014 В.В. Чайка¹, Н.В. Саяпина², Т.А. Баталова², А.А. Сергиевич², И.В. Мишаков³,
А.А. Ведягин³, М.А. Новиков⁴, К.С. Голохваст¹

¹ Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

² Амурская государственная медицинская академия, г. Благовещенск

³ Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, г. Новосибирск

⁴ Восточно-Сибирский центр экологии человека, г. Ангарск

Поступила в редакцию 08.12.2014

В работе представлены результаты исследования влияния 3 типов углеродных нановолокон на организм крыс линии Вистар при пероральном введении с пищей в дозе 500 мг/кг тела в течение 14 дней. Углеродные нановолокна по результатам электронной микроскопии имели линейные размеры: средний диаметр 85 нм и длину 5-50 мкм. Показано незначительное патологическое влияние нановолокон на гистологическое строение почек и селезенки крыс. Отмечаются локальные некрозы и инфильтрация в почках, уменьшение лимфоидных фолликулов, полнокровие и стаз в селезенке.

Ключевые слова: *углеродные нановолокна, токсичность, крысы Вистар*

Углеродные нановолокна – углеродные цилиндрические наноструктуры, представляющие собой сложенные стопкой слои графена в виде конусов, чашек или пластин. Токсичность и биологические эффекты углеродных нановолокон исследуются крайне широко (Chand, 2000; Magrez et al., 2006; Horváth et al., 2011; Delorme et al., 2012; Huang, 2009; Feng et al., 2014), но до сих пор существуют неразрешенные вопросы.

Цель работы: изучить морфологические изменения в основных органах мишенях (почки и селезенка) у крыс линии Вистар при пероральном применении 3 типов углеродных нановолокон (УНВ).

Чайка Владимир Викторович, кандидат биологических наук, доцент кафедры безопасности жизнедеятельности в техносфере

Саяпина Нина Витальевна, аспирантка

Баталова Татьяна Анатольевна, доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой физиологии и патофизиологии

Сергиевич Александр Александрович, кандидат биологических наук, докторант кафедры физиологии и патофизиологии

Мишаков Илья Владимирович, кандидат химических наук, руководитель группы мембранно-каталитических процессов

Ведягин Алексей Анатольевич, кандидат химических наук, ученый секретарь

Новиков Михаил Александрович, аспирант

Голохваст Кирилл Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: droopy@mail.ru

Материал и методы. Все опыты с животными проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинской декларации. Перед выполнением работ всех животных содержали в одинаковых условиях. Не менее 10 дней перед началом эксперимента крысы получали полноценный пищевой рацион в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (1977).

Для определения влияния УНВ на морфологию внутренних органов при пероральном введении использованы самцы крыс линии Вистар массой 300 г. Они получали УНВ с пищей в дозировке 500 мг/кг массы тела в течении 14 дней. УНВ перемешивали с едой (стандартный комбикорм) и контролировали процесс поедания. Животных разделяли на 4 экспериментальные группы по 10 особей в каждой, в том числе: «Контроль» - животные, которые не получали минералы, «КМ2» - крысы, получавшие УНВ КМ2-56-БР, «БР» - крысы, получавшие УНВ 56-БР, «ОБР» - крысы, получавшие УНВ 56-ОБР. УНВ были синтезированы в Институте катализа им. Г.К. Борескова СО РАН (Новосибирск) путём каталитического разложения пропан-бутановой смеси (C₃-C₄) на гетерогенном катализаторе 90%NiO+10%Al₂O₃, приготовленном методом соосаждения нитратов никеля и алюминия. Синтез проводили на установке с роторным

реактором при 500°C. Выход углеродного продукта составил 24 г/г(кат). Морфология полученных углеродных нитей соответствовала коаксиально-коническому типу. Полученный образец (56БР) был разделен на 3 части. Вторая часть была обработана в концентрированной азотной кислоте (30 мин), что позволило удалить дисперсные частицы никеля из состава углеродного материала (56-ОБР). Третья часть исходного материала 56БР была подвергнута влажному размолу в керамической мельнице в суспензии с

водой в течение 24 часов (КМ2-56БР). По данным ПЭМ, средний диаметр углеродных нитей во всех трех образцах составил 85 нм и не меняется при обработке, а длина нитей немного уменьшается при размельчении. Длина нитей варьируется в пределах 5-50 мкм. Характеристика разных УНВ приводится в табл. 1. Гранулометрический анализ размера агрегатов УНВ проводили на лазерном анализаторе частиц Analysette 22 NanoTech (фирма Fritsch).

Таблица 1. Физико-химические параметры УНВ, взятых в эксперимент

Характеристика	Диаметр УНВ, нм	Длина УНВ, мкм	Площадь удельной поверхности УНВ, м ² /г
56-БР	от 20 до 200 (в среднем 85)	5-50	105
КМ2-56-БР			103
56-ОБР			125

Забор материала осуществлялся после наркотизации крысы внутримышечным введением 0,5 мл 5% раствора кетамина. Блоки фиксировали в 10% растворе забуференного нейтрального формалина «Histoline» (Элемент, Россия), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в парафин «Histomix Extra» (БиоВитрум, Россия). Из полученных блоков готовили полутонкие срезы, окрашивали гематоксилин-эозином, изучали под световым микроскопом «Zeiss Axio Observer A1» (Zeiss, Германия), для фотосъемки – «Axio Cam 3» (Zeiss, Германия) и программу компьютерной морфометрии «AxioVision 4.2». Взвешивание

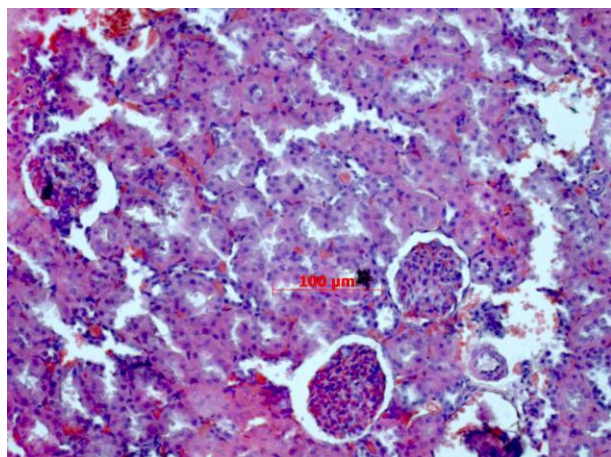
внутренних органов производились после забора крови на весах

Результаты и их обсуждение. Для изучение влияния УНВ на морфологическую структуру внутренних органов вначале была оценена масса последних (табл. 2). Видно, что достоверного отличия между группами нет, но мы можем отметить статистически значимое повышение массы селезенки и сердца и почек в группе 56-ОБР.

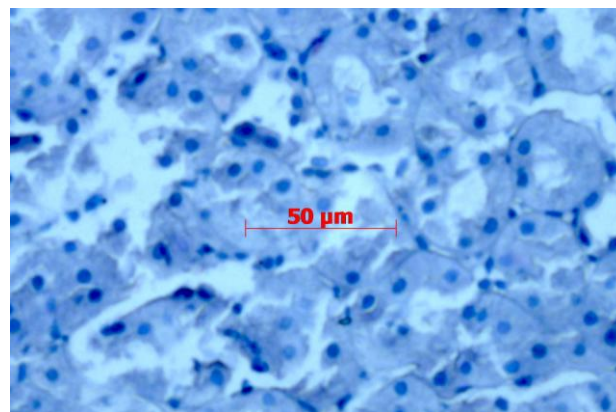
Гистологическое строение ткани почек показанное на рис. 1а и 1б при световой микроскопии в экспериментальных группах животных, получавших с кормом УНВ, выявило ряд отличий от контроля.

Таблица 2. Масса внутренних органов крыс в разных экспериментальных группах

Группы / Органы	К	56-БР	КМ2-56-БР	56-ОБР
почки	1,06±0,04	1,12±0,09	1,08±0,06	1,25±0,15
селезенка	1,00±0,06	0,88±0,15	1,01±0,22	1,12±0,11



а)



б)

Рис. 1. Гистологическое строение почек у крыс при введении УНВ разных типов: а) ткань почки крысы в группе 56-БР. Выраженная эритроцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилин-эозином; б) ткань почки крысы в группе 56-ОБР. Локальные некротические поражения. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: а) $\times 200$, б) $\times 400$.

В ткани почек у крыс в группах 56-БР, КМ2 и 56-ОБР отмечаются локальные некрозы, а также клеточная инфильтрация, преимущественно эритроцитарная, хотя отмечается и лимфоцитарная (рис. 2). Сосуды полнокровны, но стаза не отмечается. Так, в ткани почек у крыс группы 56-ОБР отмечаются дистрофические изменения и некрозы (рис. 1б). Ядра здесь не прослеживаются, границы клеток стерты.

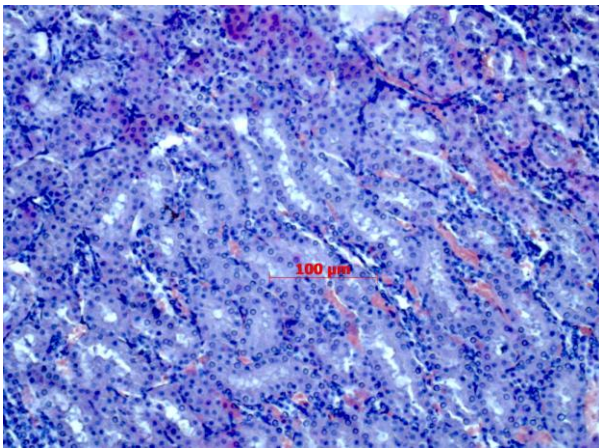
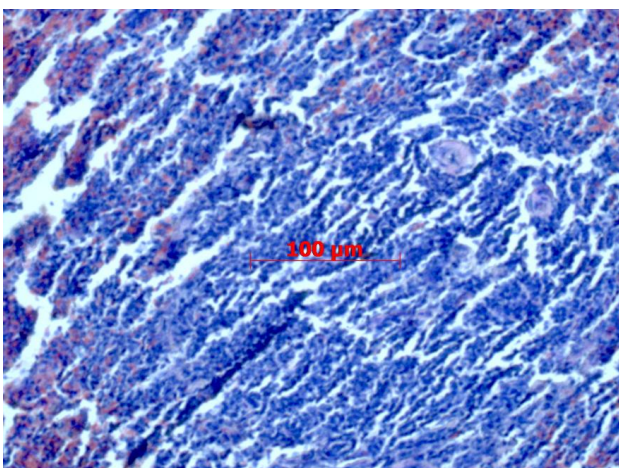
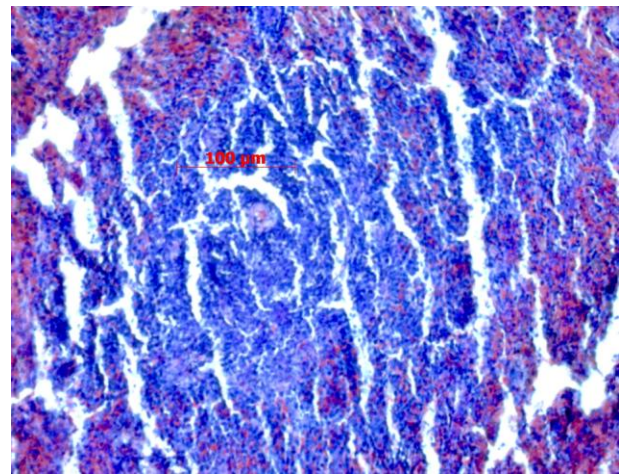


Рис. 2. Гистологическое строение почек у крыс при введении УНВ 56-БР. Выраженная инфильтрация и стаз в сосудах. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 200$

Гистологическое строение селезенки (рис. 3а и 3б), при световой микроскопии в экспериментальных группах выявило ряд отличий от контроля.



а)



б)

Рис. 3. Гистологическое строение селезенки у крыс при введении УНВ разных типов: а) лимфоидный фолликул в контрольной группе. Окраска гематоксилин-эозином; б) лимфоидный фолликул в группе 56-БР. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение а) и б) $\times 200$.

Как можно видеть, лимфатические фолликулы в экспериментальных группах немного меньше, чем в контроле. Кровоизлияний не отмечено, но сосуды полнокровны (рис. 4), наблюдаются стазы. В целом, красная и белая пульпа без патологических изменений.

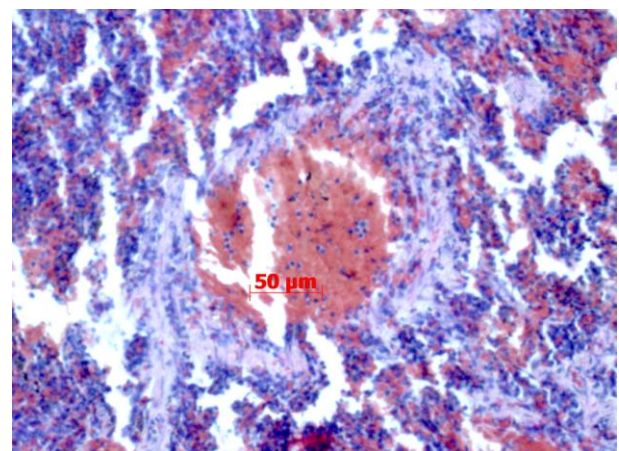


Рис. 4. Стаз в сосуде селезенки у крыс в группе 56-ОБР. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 200$

Выводы: разные виды УНВ оказывают влияния на гистологическое строение почек и селезенки при пероральном введении в исследованной дозировке 500 мг/кг в течение 14 дней. Мы отмечаем лишь незначительные патологические изменения, такие, как локальные некрозы, стаз сосудов и инфильтрацию в почках, уменьшение лимфоидных фолликулов, полнокровие и стаз в селезенке. Данная работа требует продолжения ввиду высокой важности технологического процесса получения перспективных наноматериалов.

Работа выполнена при поддержке Научного фонда ДВФУ и Гранта Президента для молодых ученых МК-1547.2013.5.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Chand, S. Review carbon fibers for composites // J. Mater. Sci. 2000. №35. P. 1303-1313.
2. Delorme, M.P. Ninety-day inhalation toxicity study with a vapor grown carbon nanofiber in rats / M.P. Delorme, Y. Muro, T. Arai et al. // Toxicol Sci. 2012. Vol. 128(2). P. 449-60.
3. Feng, L. Carbon Nanofibers and Their Composites: A Review of Synthesizing, Properties and Applications / L. Feng, N. Xie, J. Zhong // Materials. 2014. №7. P. 3919-3945.
4. Horváth, L. Toxicity Study of Nanofibers / L. Horváth, A. Magrez, B. Schwaller, L. Forró // Supramolecular Structure and Function. 2011. No 10. P. 133-149.
5. Huang, X. Fabrication and properties of carbon fibers // Materials. 2009. №2. P. 2369-2403.
6. Magrez, A. Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials / A. Magrez, S. Kasas, V. Salicio et al. // Nano Lett. 2006. № 6. P. 1121-1125.

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT THE INFLUENCE OF DIFFERENT TYPES OF CARBON NANOFIBRES ON INTERNAL ORGANS (KIDNEYS AND SPLEEN) OF VISTAR RATS

© 2014 V.V. Chaika¹, N.V. Sayapina², T.A. Batalova², A.A. Sergievich², L.V. Mishakov³,
A.A. Vedyagin³, M.A. Novikov⁴, K.S. Golokhvast¹

¹ Far Eastern Federal University, Vladivostok

² Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk

³ Boreskov Institute of Catalysis SB RAS, Novosibirsk

⁴ Eastern Siberian Center of Human Ecology SB RAMS, Angarsk

Results of research of influence of 3 types of carbon nanofibres on an organism of rats of the line Vistar at oral introduction with food in a dose of 500 mg/kg of a body within 14 days are presented. Carbon nanofibres by results of electronic microscopy had the linear sizes: average diameter is 85 nanometers and length of 5-50 microns. Influence of nanofibres on a histologic structure of a kidneys, spleen and heart of Vistar rats is shown. Local necroses and infiltration in kidneys, reduction of lymphoid follicles, polnokrovny and stasis in a spleen are noted.

Key words: carbon nanofibers, toxicity, Wistar rat

Vladimir Chaika, Candidate of Biology, Associate Professor
at the Department of Health and Safety in Technosphere

Nina Sayapina, Post-graduate Student

Tatiana Batalova, Doctor of Biology, Associate Professor,

Head of the Physiology and Pathophysiology Department

Alexander Sergievich, Candidate of Biology, Doctoral

Candidate at the Physiology and Pathophysiology Department

Iliya Mishakov, Candidate of Chemistry, Chief of the Group of
Membrane-Catalytic Processes

Aleksey Vedyagin, Candidate of Chemistry, Scientific Secretary

Mikhail Novikov, Post-graduate Student

Kirill Golokhvast, Candidate of Biology, Senior Research Fellow.

E-mail: droopy@mail.ru