

25. Проданчук М.Г. Научно-методичні аспекти токсиколого-клінічних досліджень впливу мінерального складу питної води на стан здоров'я населення (огляд літератури) / М.Г. Проданчук, І.В. Мудрий, В.І. Великий, Г.І.Петрашенко, А.А. Калашніков, В.М. Проценко, Н.Г. Гончаренко, О.Р. Ситенко // *Современные проблемы токсикологии*. - 2006. - №3 - С.4 -7.
8. Романюк А.М. Морфологічні зміни нейронів головного мозку щурів в умовах впливу на організм солей важких металів та їх фармакокорекція глутаргіном/А.М.Романюк, Н.Б.Гринцова, Г.Ю.Будко, Л.І.Карпенко // *Вісник морфології*. — 2010. — Вип.16(2). — С. 393—397.
9. Скельний А.В. Хімічні елементи у фізіології й екології людини/ В.І.Скельний — М.: Наука, 2004. — 98 с.
10. Ягупова А.С. Параметри антиоксидантної активності та вміст заліза в крові при експериментальному інфаркті міокарда/ А.С. Ягупова, І.В. Ніженковська, О.В. Вельчинська, Т.А Кулікова, Ю.П. Шамрай, В.П. Нароха, Н.С. Чумак // *Современные проблемы токсикологии*. — 2006. — №3 — С.19-22.
11. Florea Ana-Maria. Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds / Ana-Maria Florea, Dietrich Busselberg // *Biometals*. — 2006. — Vol.19, № 4. — P. 419—427.

Реферати

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСУДИСТОГО РУСЛА КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ СУЛЬФАТОВ МЕДИ, ЦИНКА И ЖЕЛЕЗА

Романюк А.М., Гринцова Н.Б., Романюк С.А., Козик Е.В.

В эксперименте на 48 половозрелых крысах-самцах в возрасте 5-8 месяцев, которые в течении 3-х месяцев употребляли воду, насыщенную комбинацией солей тяжелых металлов цинка, меди и железа установлено, что смесь тяжелых металлов оказывает на сосуды коры головного мозга достаточно выразительный вазотоксичный эффект. Степень выраженности морфологических перестроек в сосудистом русле находится в прямой зависимости от сроков эксперимента. На ранних этапах опыта наблюдаются функциональные расстройства гемодинамики (дистонические изменения сосудов, стаз крови). С увеличением сроков эксперимента перестройки принимают признаки органических, полиморфных (повышение проницаемости стенок сосудов, формирование периваскулярного отека, слагд-феномен, образования диапетических кровоизлияний в ткань мозга, геморрагическая инфильтрация ткани мозга).

Ключевые слова: кора головного мозга, сульфаты меди, цинка, железа, стаз крови.

Статья надійшла 15.05.2014 р.

STRUCTURAL CHANGES OF THE VASCULAR BED OF THE RAT BRAIN CORTEX IN THE BODY UNDER THE ACTION OF COPPER SULFATE, ZINC AND IRON

Romaniuk A.M., Grintsova N., Romaniuk S., Kozik E.

In the experiment, 48 adult male rats aged 5-8 months who are within 3 months of consumed water saturated with a combination of heavy metal salts of zinc, copper and iron, the mixture of heavy metals has on blood vessels of the cerebral cortex is quite expressive vazotoksichny effect. The degree of severity of morphological transformations in the bloodstream is directly dependent on the timing of the experiment. In the early stages of experience observed functional disorders of hemodynamics (dystonic vascular changes, blood stasis). With the increase in terms of restructuring the experiment take signs of organic polymorphic (increased permeability of the vessel walls, perivascular edema formation, sludge phenomenon, education diapedetic hemorrhage into the brain tissue, hemorrhagic infiltration of the brain tissue).

Keywords: cerebral cortex, sulphates of copper, zinc, iron, blood stasis.

Рецензент Старченко І.І.

УДК 535.343: 612.017.4

Сырма Е.И.¹, Думброва Н.Е.², Молчанок Н.И.², Ульянов В.А.¹, Скобеева В.М.³
¹Одесский национальный медицинский университет, ²НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова, группа электронной микроскопии лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии, ³НИИ физики Одесского национального университета им. Мечникова, г. Одесса

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ ПРИ ВВЕДЕНИИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Эксперимент проводился на 17 крысах линии Вистар. После подкожного введения 0,01мл раствора наночастиц серебра эффект оценивался на 7 и 14 сутки. Для электронно-микроскопического исследования фрагменты кожи спины фиксировались, ультратонкие срезы контрастировались по методике Reynolds. Просматривались и фотографировались срезы в электронном микроскопе ПЭМ-100-01. Показано, что при введении наночастиц серебра размером 30 нм в коже отмечается комплекс реактивных изменений, приводящий к повышению белоксинтезирующей функции фибробластов и эпителиоцитов базального слоя эпидермиса, нарушению фиброархитектоники и неоколлагеногенезу.

Ключевые слова: наночастицы серебра, кожа, трансмиссионная электронная микроскопия

Работа является фрагментом НИР "Морфогенез эпителиальной та сполучної тканини за фізіологічних та патологічних умов", № держ. реєстрації 0109U008570.

Растущее количество работ, посвященных исследованиям влияния наночастиц серебра на биологические объекты, объясняется широкими перспективами применения наночастиц серебра в медицине. Несмотря на большое количество исследований, следует отметить, что морфологические изменения в тканях описаны недостаточно. Особенно, морфологические изменения в тканях кожи, тогда как наиболее перспективным является местное применение наночастиц серебра [3,5]. В связи с

вышесказанным изучение морфологических изменений в коже под воздействием наночастиц серебра является актуальным.

В наших исследованиях показано, что при введении наночастиц серебра 30нм в коже возникает комплекс реактивных изменений. Сразу после введения наступает фаза воспаления, которая сменяется фазой регенерационного гистогенеза с формированием грануляционной ткани, и завершает процесс фаза адаптивной перестройки. Наиболее специфические изменения происходят на 7-14 сутки, когда в дерме отек и клеточная инфильтрация сменяется формирующейся «грануляционной тканью», нарушением фиброархитектоники и усилением коллагеногенеза. Изменения затрагивают и эпидермис, где вслед за деструктивными изменениями, начинают преобладать процессы регенерации [2]. Однако для подтверждения активации белоксинтетической функции, изменений строения волокон и состояния базальной мембраны светооптического уровня недостаточно.

Целью работы было изучение ультраструктурных изменений кожи крыс при введении наночастиц серебра размером 30нм.

Материал и методы исследования. Экспериментальные исследования проведены на 17 интактных крысах линии Вистар обоих полов весом 0,18-0,24кг. Животные содержались в стандартных условиях вивария Одесского национального медицинского университета согласно научно-практическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных и работе с ними. Животные были разделены на 2 группы: интактная группа и животные, которым вводились $Ag\text{НЧ}$ 30нм. Введение 0.01 мл раствора осуществлялось в область холки строго подкожно на глубину 120 мкм с помощью инсулинового шприца. После введения эффект оценивался на 7 и 14 сутки. Вывод животных из эксперимента проводился методом передозировки эфирного наркоза. Эксперимент выполнялся с соблюдением норм Закона Украины «О защите животных от жестокого обращения», а также общими этическими принципами экспериментов на животных и Этическим кодексом ученого Украины [1].

НЧ серебра синтезированы на базе НИИ физики ОНУ им. И.И. Мечникова. В данной работе для получения НЧ Ag, был применен цитратный метод. Синтез НЧ Ag проводился при следующих технологических параметрах: эквимольные концентрации $AgNO_3$ и $Na_3C_6H_5O_7$: $5 \cdot 10^{-4}M$; отношение концентраций $(AgNO_3)/(Na_3C_6H_5O_7) = 1:4$; температура синтеза - $100^\circ C$; время синтеза, мин: 60. При используемых параметрах синтеза с применением цитрата натрия были получены наночастицы серебра сферической формы размером 30 нм.

Для электронно-микроскопического исследования фрагменты кожи спины фиксировались в 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении pH - 7,4 с последующей дофиксацией 1 % раствором осмиевой кислоты при том же pH буферного раствора. Затем образцы обезвоживались в спиртах восходящей крепости. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпон-аралдит. Затем ультратонкие срезы контрастировались по методике Reynolds [6]. Просматривались и фотографировались срезы в электронном микроскопе ПЭМ-100-01. Ультраструктурные исследования проведены в группе электронной микроскопии лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова под руководством профессора Н.Е. Думбровой.

Результаты исследования и их обсуждение. На 7 сутки архитектура слоев эпидермиса, в целом, сохранена. В единичных клетках шиповатого слоя встречаются элементы перинуклеарного отека. Ядра в этих клетках крупные с ядрышком.

Слой базальных клеток эпидермиса непрерывный. Клетки тесно контактируют друг с другом с помощью десмосом. Базальные клетки содержат округлое ядро, часто с 1-2 ядрышками. Ядерная мембрана отчетлива. Гетерохроматин ядра равномерно диспергирован. Цитоплазма умеренной электронной плотности, содержит большое количество микрофиламентов. В цитоплазме также повышенное содержание элементов зернистой эндоплазматической сети, свободных рибосом, полисом и мелких плотных митохондрий. Плазмолемма базальных клеток приклепляется к базальной мембране с помощью полудесмосом (рис.1).

Базальная мембрана этих клеток состоит из 2-х слоев, резко утолщенных слоев электронно-плотного материала. Эти слои имеют лентообразный вид и разделены узкими светлыми промежутками. Полудесмосомы прикреплены к слою, прилежащему непосредственно к клетке. Материал базальных мембран плотный, почти гомогенный. Помимо описанного встречаются единичные базальные клетки с элементами деструкции как ядерных, так и цитоплазматических структур. При этом они сохраняют плазмолемму, хотя разрыхленную и фрагментированную, которая соединяется с помощью полудесмосом с вышеописанным материалом базальной мембраны.

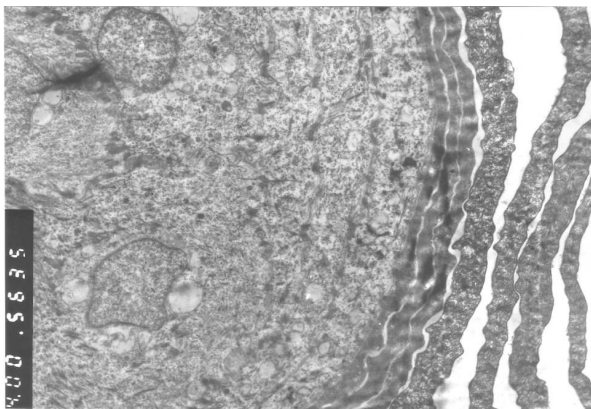


Рис. 1. Ультраструктура эпидермиса крысы через 7 суток после введения наночастиц серебра. Клетки базального слоя с многослойной базальной мембраной. Электронограмма. X 4000.

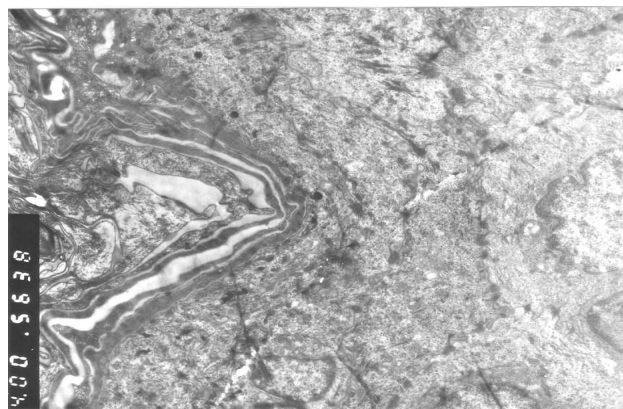


Рис. 2. Ультраструктура эпидермиса крысы через 14 суток после введения наночастиц серебра. Базальные клетки с дольчатыми ядрами. Электронограмма. X 4000.

Через 14 суток пласт эпидермиса остается сохранным. Клетки базального слоя тесно соприкасаются при помощи десмосом. Часть клеток содержат крупные овальные ядра с диспергированным хроматином, другая часть базальных клеток содержат дольчатые ядра с фистончатой ядерной мембраной. Ядерная мембрана в тех и других клетках многопориста. Цитоплазма содержит пучки тонких микрофилламентов, в большом количестве свободные рибосомы и полисомы. Плазмолемма базальных клеток прикрепляется к базальной мембране. Базальная мембрана, в основном, 2-хслойная, электронно-плотная, гомогенная (рис.2).

По содержанию внутриклеточных органелл и по состоянию ядер базальных клеток, можно сказать, что часть из них близка к нормальным, часть обеднена органеллами и большая часть богата органеллами, участвующими в белоксинтезирующих процессах.

На 7-е сутки эксперимента архитектура ткани дермы нарушена. Пучки коллагеновых фибрилл располагаются часто на различном удалении друг от друга, разделенные электронно-прозрачными участками. Помимо этого толщина коллагеновых пучков различна. Встречаются толстые коллагеновые пучки, состоящие из довольно однородных коллагеновых фибрилл, по структуре близких к нормальным. В то же время рядом располагаются менее организованные коллагеновые пучки, а также короткие пучки коллагеновых фибрилл. Часть пучков коллагеновых фибрилл разрыхлены, имеют неоднородную осмиофильность и трудно определяемую поперечную исчерченность (рис.3).

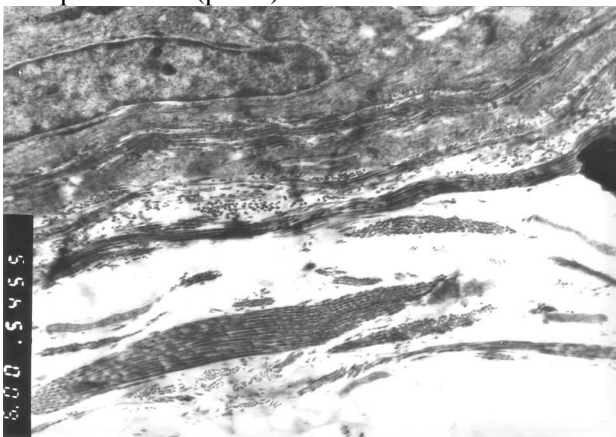


Рис.3. Ультраструктура дермы крысы через 7 суток после введения наночастиц серебра. Пучки коллагеновых фибрилл с участками уплотнения или разрыхления. Электронограмма. X 6000.



Рис.4. Ультраструктура дермы крысы через 14 суток после введения наночастиц серебра. Увеличенное содержание упорядоченных пучков коллагеновых фибрилл. Электронограмма. X 4000.

Часть фибробластов (ФБ) содержат крупное ядро и ядрышко, извилистую ядерную мембрану и содержат в цитоплазме увеличенное количество органелл, участвующих в белковом синтезе: элементов зернистой эндоплазматической сети, свободных рибосом и полисом. Такие клетки активно вырабатывают предшественники коллагена. Часть ФБ менее активна, содержат обычное ядро и типичные органеллы в цитоплазме.

На 14 сутки структура дерми более організована. Зде́сь також на́блюдаються КР різних розмірів, состоящие – одні из более толстых КФ, а другие – из тонких, но КФ лежат более упорядочено (рис.4).

В ткани больше ФБ со структурой близкой к нормальной, по сравнению с предыдущим сроком. Часть ФБ содержит различное количество элементов участвующих в белковом синтезе, т.е. находятся на различных стадиях активности: от выраженной активации соответствующих ультраструктур до следов этих процессов

Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що під впливом наночастиць срібла відбувається підвищення функціональної активності і посилюється білковий синтез в фібробластах. Посилення білоксинтетическої функції фібробластів підтверджується зміною фіброархитектоники і появою більшого кількості менше організованих або коротких колагенових фібрил. Сопоставляя результати власних досліджень з даними літератури, указуючими на посилення колагеногенеза під впливом наночастиць срібла [3,4], можна передбачати наявність стимулюючого впливу наночастиць срібла на функціональну активність кліток дерми. В епідермісі також відзначається підвищення вмісту органел, які беруть участь в білоксинтетических процесах. Таким чином, проведені ультраструктурні дослідження тканин шкіри дозволили отримати об'єктивне підтвердження стимулюючого впливу наночастиць срібла розміром 30 нм на білоксинтезуючу функцію.

Заключення

При введенні наночастиць срібла розміром 30 нм в шкіру відзначається комплекс реактивних змін, який призводить до підвищення білоксинтезуючої функції фібробластів і епітеліоцитів базального шару епідермісу, порушенню фіброархитектоники і неокколагеногенезу.

Перспективи дальніших досліджень. Уточнення механізмів впливу наночастиць срібла розміром 30 нм на функціональну активність кліток потребує дальнішого імуногістохімічного дослідження.

Список літератури

1. Мішалов В.Д. Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових досліджень / В.Д. Мішалов, Ю.Б. Чайковський, І.В. Твердохліб // Морфологія. – 2007 – Том 1, № 2. – С. 108–115.
2. Сырма Е.И. Морфологические изменения кожи при введении наночастиц серебра / Сырма Е. И., Скобева Т.М., Ульянов В.О. // Морфология. – 2014. – Т.8. – №1. – С.90-94.
3. Чекман І.С. Наночастинки: впровадження у медичну практику / Чекман І.С., Горчакова Н.О., Нагорна О.О. // Вісник фармакології та фармації. – 2010. – №10. – С. 2–11.
4. Gunasekaran T. Silver Nanoparticles as Real Topical Bullets for Wound Healing / Gunasekaran T., Nigusse T., Dhanaraju M. D. // Journal of the American College of Clinical Wound Specialists. – 2012. – №3. – P. 82–96.
5. Kwan K.H.L. Modulation of collagen alignment by silver nanoparticles results in better mechanical properties in wound healing / Kwan K.H.L., Liu X., To M.K.T. [et al.] // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine. – 2011. – №7. – P.497–504.
6. Reynoldes E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy / E.S. Reynoldes // J. Cell Biol. – 1963. – Vol. 17. – P. 208-212.

Реферати

УЛЬТРАМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ШКІРИ ПРИ ВВЕДЕННІ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

Сирма О.І., Думброва Н.Є., Молчанюк Н.І., Ульянов В.О., Скобева В.М.

Метою роботи було дослідити ультрамікроскопічні зміни шкіри щурів при введенні наночастинок срібла. Використовувались наночастинки сферичної форми розміром 30 нм, синтезовані цитратним методом. Експеримент проводився на 17 щурах лінії Вістар. Після підшкірного введення 0,01 мл розчину наночастинок срібла ефект оцінювався на 7, 14 доби. Для електронно-мікроскопічного дослідження фрагменти шкіри спини фіксувались, ультратонкі зрізи контрастувались за методикою Reynolds. Фотографувались зрізи в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01. Показано, що при введенні наночастинок срібла в шкіру відмічається комплекс реактивних змін, що призводить до підвищення білоксинтезуючої функції фібробластів та епітеліоцитів базального шару епідермісу, порушенню фіброархитектоники та неокколагеногенезу.

Ключові слова: наночастинки срібла, шкіра, трансмісійна електронна мікроскопія.

Стаття надійшла 12.06.2014 р.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE SKIN WITH THE INTRODUCTION OF SILVER NANOPARTICLES

Syrma O.I., Dumbrova N.E., Molchanyuk N.I., Ulyanov V.A., Skobeeva V.M.

The aim was to investigate the ultramicroscopic changes in the skin of rats when administered silver nanoparticles. Used spherical nanoparticles of 30 nm synthesized by citrate method. The experiment was conducted on 17 Wistar rats. After subcutaneous administration of silver nanoparticles solution 0,01 ml effect was estimated at 7, 14 days. For electron microscopic examination of skin fragments back fixed, ultrathin sections contrasted by method of Reynolds. Sections were photographed in the electron microscope PЭM-100-01. It is shown, that the introduction of silver nanoparticles occurs only complex reactive changes, which leads to increased protein synthesizing functions of fibroblasts and epithelial cells of the basal layer of the epidermis, the violation of fibro-architectonics and neocollagenogenesis.

Key words: nanoparticles of silver, skin, transmission electron microscopy.

Рецензент Єрошенко Г.А.