

Титов Е.А., Соседова Л.М., Новиков М.А.

## **Альтерация ткани головного мозга белых крыс, индуцированная воздействием нанокompозита серебра, инкапсулированного на полимерной матрице**

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, г.Ангарск, а/я 1170

*В статье приведены материалы экспериментального внутрижелудочного введения белым беспородным крысам-самцам наночастиц серебра инкапсулированных в полимерную матрицу арабиногалактана. Для сравнения животным вводился отдельно чистый арабиногалактан и раствор колларгола, содержащего серебро в макроформе. В ходе исследования получены данные о состоянии ткани головного мозга при воздействии данных веществ на организм. Гистологический анализ выявил наличие патологического процесса, характер и интенсивность которого различались в зависимости от вида вводимого вещества. В целом, при воздействии арабиногалактана серебра патологический процесс характеризовался появлением в ткани головного мозга периваскулярного отека, а также развитием острого воспалительного процесса с образованием глиальных рубцов, набуханием проводящих пучков.*

**Ключевые слова:** нанокompозит; арабиногалактан; наносеребро; белые крысы; морфология; ткань коры головного мозга.

**Для цитирования:** Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2015; 59(4): 41-44.

Titov E.A., Sosedova L.M., Novikov M.A.

## **Alteration of white rats brain tissue inducted by assessment of silver nanocomposite encapsulated in polymer matrix**

FSBSI «East-Siberian Institution of Medical and Ecological Research», 665827, г.Ангарск, а/я 1170

*The paper present experimental materials of intragastric administration of silver nanoparticles encapsulated in polymer matrix of arabinogalactan by white outbred male rats. Animals were injected «pure» arabinogalactan and colloid silver solution containing silver macroform separately for comparison. Research provided data about status of brain tissue at the impact of these substances on organism. Histological analysis revealed the presence of a pathological process, character and intensity of which varied depending on the type of injected material. Pathological process under the influence of silver-arabinogalactan characterized by appearance in brain tissue of perivascular edema and development of acute inflammation in formation of glial scars, swelling of vascular bundles in sum.*

**Keywords:** nanocomposite; arabinogalactan; nanosilver; white rats; morphology; cortical tissue.

**For citation:** Patologicheskaya Fiziologiya I eksperimentalnaya terapiya. 2015; 59(4): 41-44.

**For correspondence:** Sosedova L., e-mail: sosedlar@mail.ru

Развитие нанотехнологий приводит к более углубленному изучению специфических биологических свойств наносеребра, как альтернативы традиционным препаратам данного металла в макроформе (колларгол, протаргол и т.д.) [1]. Наносеребро, сохраняя свойства, присущие последним, в качестве универсального антимикробного и противогрибкового средства [2—4], способно оказывать специфическое действие при минимальных дозах, что позволяет удешевить препараты на основе серебра и сделать их доступными для лечения многих инфекционных заболеваний. Особая привлекательность препаратов наносе-

ребра заключается в отсутствие таких нежелательных побочных проявлений антибактериальной терапии, как аллергические осложнения, токсическое действие на внутренние органы, иммуносупрессия, возникновение дисбактериоза, а также появление устойчивых штаммов возбудителей к используемым антибиотикам.

Существуют многочисленные исследования и теории механизма действия серебра на бактериальную клетку. В целом, можно заключить, что, проникая внутрь клетки, серебро угнетает трансмембранный транспорт  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{++}$ , ингибирует ферменты дыха-

тельной цепи, а также разобщает процессы окисления и окислительного фосфорилирования в микробных клетках, что приводит к гибели микроорганизма [4, 5]. Новым и перспективным направлением является создание терапевтических и диагностических препаратов, основанных на иммобилизации наносеребра на полимерных носителях, что позволяет пролонгировать время действия, снизить токсичность и побочные эффекты, увеличить избирательность воздействия на орган-мишень, а также улучшить стабильность при хранении, то есть обеспечить безопасность и эффективность действия [6]. В качестве матрицы для направленного транспорта наносеребра в последние годы активно исследуется природный полимер из лиственницы сибирской — арабиногалактан, обладающий иммуномодуляторной активностью, гепатопротекторными свойствами [6]. Было выявлено, что наночастицы серебра обладают различными видами токсичности. Наряду с этим установлена высокая стабильность наночастиц серебра в окружающей среде и способность сохранять токсические свойства на протяжении нескольких лет [7]. К настоящему времени выяснено, что действие наночастиц серебра зависит от нескольких параметров, критическими из которых являются доза и способ введения [8, 9].

Таким образом, многие вопросы биологических эффектов действия наночастиц серебра остаются неизученными. Возникает необходимость более углубленного изучения токсикологических аспектов наносеребра при введении его в виде нанокомпозитов. *Целью настоящих исследований* явилось изучение морфофункционального состояния ткани головного мозга белых крыс при пероральном введении наночастиц серебра, инкапсулированных в арабиногалактане.

### Методика

Для проведения исследования из вивария Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН получены тридцать две особи беспородных белых крыс-самцов в трёхмесячном возрасте и массой от 240 до 280 г. Животные содержались в специальном помещении с 12 часовым светлым/тёмным циклом, регулируемой температурой ( $22 \pm 3^\circ\text{C}$ ) и влажностью, со свободным доступом к чистой водопроводной воде и пище, включающей в себя все необходимые витамины и микроэлементы.

Все исследования на животных были проведены в соответствии с руководящими принципами Национального института здоровья (США) № 85-23, пересмотр 1985 года и Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986)

Группы животных подбирались в соответствии с методическими рекомендациями «Оценка безопасности наноматериалов», утвержденными приказом № 280 от 12 октября 2007 г. (Москва, Россия).

Животным первой группы (8 особей) внутрижелудочно через зонд на протяжении 9 дней вводили водный раствор аргентаарабиногалактан из расчёта 100 мкг серебра на килограмм массы в 0,5 мл дистиллированной воды.

Животные второй группы (8 особей) также внутрижелудочно получали в эквивалентных количествах раствор стабилизирующего арабиногалактана (без наночастиц серебра). Животные третьей группы (8 особей) аналогичным способом получали водную дисперсию коллоидного серебра (КС), стабилизированного казеином, с содержанием серебра 8%.

Животные четвертой группы (8 особей) являлись контрольными и внутрижелудочно получали обычную дистиллированную воду.

На следующий день после окончания воздействия животные были убиты путём дислокации шейных позвонков. Часть доли печени и головной мозг от каждого исследуемого животного были извлечены и фиксированы в нейтральном буферном растворе формалина (10%), обезвожены этанолом восходящей концентрации (70, 80, 90, 95 и 100%) и помещены в гомогенизированную парафиновую среду для гистологических исследований HistoMix (BioVitrum, Россия). Далее приготовленные с помощью микротомы НМ 400 (Microm, Германия) срезы толщиной 4—5 мкм окрашивались на обычных гистологических предметных стёклах гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии. Срезы головного мозга дополнительно окрашивались по Нисслю для визуализации нервных клеток.

Исследование полученных срезов осуществлялось при помощи светооптического исследовательском микроскопе Olympus BX 51 с вводом микроизображений в компьютер при помощи камеры Olympus.

### Результаты и обсуждение

При морфологическом исследовании ткани коры головного мозга белых крыс пероральное введение арабиногалактана серебра вызывало формирование выраженного отёка сосудов и набухание оболочки головного мозга. Отек эндимы сопровождался разрыхлением и набуханием первого слоя коры головного мозга (рис. 1), непосредственно прилежащего к эндиме. В коре головного мозга белых крыс развивался слабо выраженный перичеселлюлярный отек, а в подкорковых структурах — очаговое набухание проводящих пучков (рис. 2).

Следует отметить стаз клеток крови, вследствие повышения её вязкости и выраженный периваскулярный отек сосудов в подкорковых слоях головного мозга. Эндотелий сосудов был значительно утолщен, по сравнению с контрольными препаратами данной зоны. Одним из неблагоприятных аспектов воздействия арабиногалактана серебра на головной мозг являлось развитие в ткани очагов воспаления (рис. 3), с образованием в ряде случаев глиальных рубцов (рис. 4). Наличие в экссудате большого числа лейкоцитов свидетельствовало об остром характере воспаления. Очаги воспаления не имели четкой локализации и у разных животных располагались в различных районах (под эпендимой желудочков, под оболочкой коры головного мозга, в толще коры в районе 3—4 слоя и т.д.) При этом у части животных встречались множественные небольшие очаги воспаления. Наличие глиальных рубцов, являлось, по нашему мнению, реакцией заместительной гиперплазии астроцитов в ответ на повреждение, которая развивается как исход воспаления.

В препаратах головного мозга этой же группы животных отмечалось также незначительное утолщение эпендимы, очаговое разрыхление нейротила, набухание проводящих волокон и стаз крови в сосудах с образованием выраженного периваскулярного отека. Учитывая, что частицы арабиногалактана не проходят через гематоэнцефалический барьер, по нашему мнению, полученные данные связаны с изменением метаболической активности в нервной ткани, что может быть обусловлено дисрегуляцией обменных процессов при воздействии арабиногалактана, изменением функционального состояния сосудов, следствием чего явилось нарушение трофики нервной ткани. Кроме этого возможна совокупность действия данных факторов.

В головном мозге у животных данной группы отмечалось набухание проводящих волокон в коре, что снижает эффективность проведения сигнала по аксонам. Также присутствовал выраженный периваскулярный отек. Однако каких-либо нарушений структуры нейронов, по сравнению с соответствующими контрольными препаратами, не отмечалось.

У контрольных животных, получивших внутрижелудочно дистиллированную воду, каких-либо изменений в структуре головного мозга не наблюдалось.

Таким образом, проведенный эксперимент и выявленные в ходе него морфологические изменения в ткани головного мозга показали, что при воздействии как чистого арабиногалактана, так и арабиногалактана серебра в организме подопытных животных развивался выраженный патологический процесс. Судя по характеру выявленных нарушений, он связан с дисрегуляцией метаболического гомеостаза в тканях

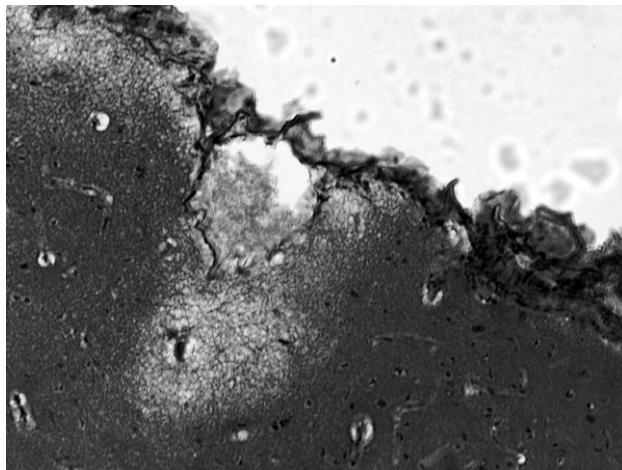


Рис. 1. Набухание мягкой мозговой оболочки и разрыхление нейротила в прилежащих слоях с развитием периваскулярного отека в прилежащих сосудах при воздействии арабиногалактана серебра. Гематоксилин-эозин. Ув.Х400.

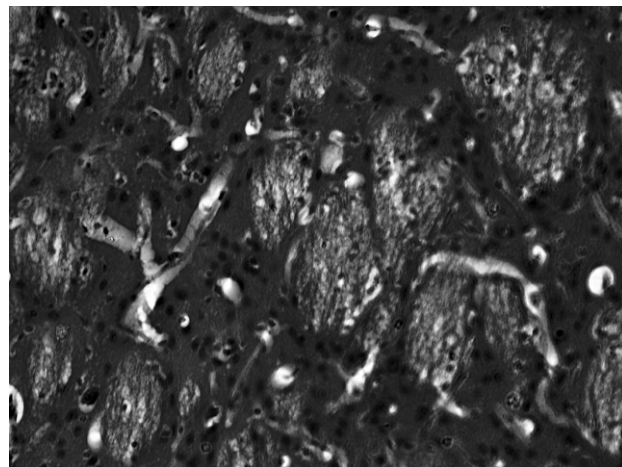


Рис. 2. Очаговое набухание и разрыхление проводящих пучков в подкорковом слое. Гематоксилин-эозин. Ув.Х400.

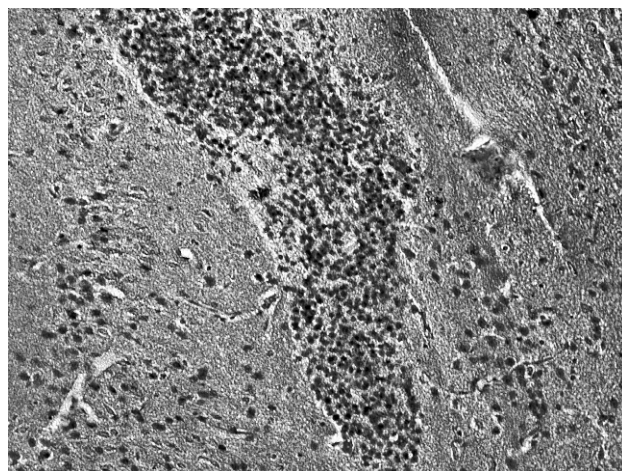


Рис. 3. Ткань коры головного мозга белой крысы при воздействии арабиногалактана серебра. А — очаг воспаления в подкорковых структурах. Гематоксилин-эозин. Ув. X 400.

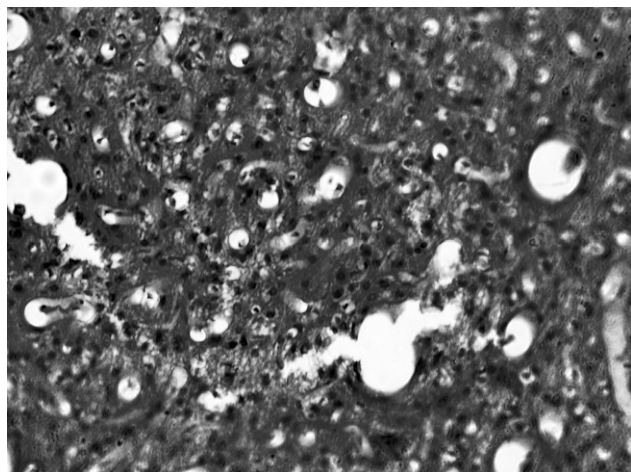


Рис. 4. Образование глиального рубца вследствие воспаления. Вакуолизация нейронов и клеток глии. Гематоксилин-эозин. Ув. X 400.

коры головного мозга, что приводило к формированию перичеллюлярных и периваскулярных отеков и, как следствие, нарушению трофики клеток с последующим развитием в них дистрофических процессов.

В ткани головного мозга при введении арабиногалактана серебра обнаруживался острый воспалительный процесс с образованием глиальных рубцов. В целом, развитие острого воспаления в ткани мозга указывало на значимость токсического воздействия арабиногалактана серебра на организм животного.

Таким образом, внутрижелудочное введение наночастиц серебра, инкапсулированных в природную биоматрицу — арабиногалактан, вызывало развитие патологических нарушений в головном мозге, которые обусловлены дисрегуляцией метаболических процессов в организме животных и несостоятельностью компенсаторно-приспособительных реакций, возникающих в ответ на введение нанокompозита.

В дальнейших экспериментальных исследованиях предполагается решение вопросов, связанных с изме-

нением состояния эндотелия сосудов, как наиболее вероятной мишени воздействия и длительностью сохранения морфологических изменений во внутренних органах.

## References

1. Voronkov M.G., Antonik L.M., Lopyrev V.A., Abzaeva K.A., et al. Antimicrobial and hemostatic effects of silver-containing poly(acrylic acid) derivatives. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2001; 35(5): 252-3.
2. Colleen M. Santoro, Nicole L. Duchsherer et al. Antimicrobial efficacy and ocular cell toxicity from silver nanoparticles. *Nanobiotechnology*. 2007; 3(2): 55-65
3. Hung-Li Liu, Shenghong A Dai, Keng-Yen Fu, Shan-hui Hsu. Antibacterial properties of silver nanoparticles in three different sizes and their nanocomposites with a new waterborne polyurethane. *International Journal of Nanomedicine*. 2010;5 1017-28.
4. Irwin P., Martin J., Ly-Huong Nguyen, Yiping He, et al. Antimicrobial activity of spherical silver nanoparticles prepared using a biocompatible macromolecular capping agent: evidence for induction of a greatly prolonged bacterial lag phase. *J Nanobiotechnology*. 2010, 8: 34.
5. Guzman M., Dille J., Godet S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 2012; 8(1): 37-45.
6. Medvedeva S., Aleksandrova G., Grischenko L. Transformation of larch polysaccharide. *The 11th Intern.Symp. on Wood Pulp Chem.* Nice, France. 2001; Vol. II: 123-6.
7. Yen H.-J., Hsu S.-h., Tsai Ch.-L. Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes. *Small*. 2009; 5(13): 1553-61.
8. Trofimov BA, Sukhov BG, Aleksandrova GP, Medvedeva SA, et al. Nanocomposites with magnetic, optical, catalytic, and biologically active properties based on arabinogalactan. *Doklady Chemistry*. 2003; 393: 287-8.
9. Witt K.L., Livanos E., Kissling G.E., Torous D.K. et al. Comparison of flow cytometry- and microscopy-based methods for measuring micronucleated reticulocyte frequencies in rodents treated with nongenotoxic and genotoxic chemicals. *Mutation research*. 2008; 649(1-2): 101-13.

Поступила 31.07.14

## Сведения об авторах:

Титов Евгений Алексеевич, науч. сотр. лаб. токсикологии, канд. биол. наук, e-mail: G57097@yandex.ru  
Новиков Михаил Александрович, мл. науч. сотр. лаб. токсикологии, аспирант, e-mail: novik375@bk.ru