

УДК 612. 617. 6. 7: 621. 3

О.А. Салівоник,

О.В. Сачинська,

Л.І. Полякова,

Л.В. Чайковська

ДУ "Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України", м. Київ

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ЗОЛОТА НА ОРГАНИ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ САМЦІВ ЩУРІВ

Ключові слова: сім'яники, передміхурова залоза, наночастинки золота, щури.

Резюме. У роботі досліджено вплив наночастинок золота з середнім розміром 26,4 нм, що вводилися підшкірно в дозі 5 мг/кг маси тіла (за металом) протягом 7 днів, на органи репродуктивної системи статевозрілих самців щурів. Отримані результати показали, що досліджуваний препарат не здійснював пошкоджуючого впливу на репродуктивну систему самців, за винятком запального процесу у вентральній частці передміхурової залози.

Вступ

Нанотехнології швидко знаходять своє застосування в різноманітних галузях медицини. Наночастинки металів є принципово новим класом матеріалів, яким притаманна здатність особливим чином взаємодіяти з біологічними об'єктами. Вони є перспективними для діагностики та лікування захворювань різної етіології, зокрема, ендокринної патології та гормонозалежних злоякісних пухлин [12].

Велику увагу дослідників привертають наночастинки золота (НЧЗ), які мають високий потенціал застосування в медицині та інших галузях. НЧЗ характеризуються унікальними фізико-хімічними та біологічними властивостями, що в значній мірі залежать від їх розміру, форми і поверхневої модифікації [11]. НЧЗ використовуються в медицині, косметології, електроніці, оптиці, енергетиці тощо. Натепер проводяться клінічні випробування препаратів нанозолота для діагностики і лікування злоякісних пухлин [13]. Проте існує цілий ряд ризиків, що стримують розвиток і впровадження наноматеріалів у медичну практику. Це пов'язане з малою кількістю інформації про токсичні властивості наночастинок, що були використані при створенні лікарських препаратів нового покоління [7]. Дослідження впливу нанорозмірних матеріалів на біологічні об'єкти активно проводяться в багатьох країнах світу, у тому числі, в Україні [2]. Отримані дані дозволяють стверджувати, що наночастинки можуть проникати в організм через дихальні шляхи, шлунково-кишковий тракт, шкіру. Завдяки малому розміру вони здатні долати гематоенцефалічний і плацентарний бар'єри. Наразі йдуть активні дослідження щодо розподілу і накопичення НЧЗ в

різних органах і тканинах людини та тварин. Ці питання недостатньо вивчені та вимагають комплексного підходу з проведенням експериментів в умовах *in vitro* та *in vivo* на фізіологічному, клітинному та молекулярному рівнях [3].

Надзвичайно мало відомостей існує в літературі щодо впливу НЧЗ на органи чоловічої репродуктивної системи. Нечисленні дані літератури щодо здатності НЧЗ проникати через гематотестикулярний бар'єр та спричиняти порушення морфологічного стану органів чоловічої репродуктивної системи досить суперечливі [5,8].

Мета роботи

Дослідити вплив НЧЗ з середнім розміром 26,4 нм на органи репродуктивної системи статевозрілих самців щурів.

Матеріали і методи

Досліди проведено на 20 статевозрілих самцях щурів Вістар із масою тіла 200-250 г, отриманих у розпліднику віварія ДУ "Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України". Тварини, розподілені на групи методом рандомізації, утримувались за однакових умов на стандартному раціоні харчування та вільному доступі до води. Утримання та використання тварин проводили згідно біоетичних вимог Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.).

Досліджувався вплив полідисперсного колоїдного розчину НЧЗ, стабілізованих полівінілпіролідом (ПВП), із середнім розміром 26,4 нм із

переважанням частинок розміром 21,8 нм (42 % від загальної кількості наночастинок) у добовій дозі 5 мг/кг маси тіла (за металом) на органи репродуктивної системи. Розмірні характеристики вихідного розчину підтверджено дослідженнями на лазерно-кореляційному спектроскопі. Препарат колоїдного золота вводили тваринам щодня підшкірно протягом 7 діб. Контрольні тварини отримували фізіологічний розчин або відповідну дозу ПВП (37,5 мг/кг) у 0,9 % натрію хлориду.

Тварин знеживлювали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом через 24 год після останнього введення препаратів. Сім'яники, їх придатки (епідидиміси) і додаткові статеві залози - вентральну простату (ВП), коагулюючу залозу (КЗ), сім'яні пухирці (СП) після витискання секрету зважували, наважки КЗ заморожували і зберігали при -20°C до аналізу. Виділення і обробку тканин проводили на холоді. У тканинах КЗ визначали вміст фруктози [6]. В епідидимісах підраховували кількість сперматозоїдів після дозованого їх вимивання фізіологічним розчином [9]. У плазмі крові визначали вміст тестостерону (Т) радіоімунологічним методом за допомогою наборів (RIA Testosterone direct; Immunotech). Частилки ВП і сім'яники фіксували в рідині Буена, заливали в парафін, виготовляли зрізи 5-6 мкм завтовшки і забарвлювали їх гематоксиліном та еозиним за загальноприйнятими методами [4].

Результати статистично обробляли з використанням критерію t Ст'юдента. Різниця між дослідною та контрольними групами вважалася віро-

гідною при рівні значимості $P < 0,05$.

Обговорення результатів дослідження

Інтегральним показником морфофункціонального стану органів репродуктивної системи є їхня маса. У результаті проведених досліджень встановили, що маса сім'яників, їхніх придатків, а також ВП і КЗ вірогідно не відрізнялись між тваринами усіх груп. Проте маса СП у щурів, котрі отримували НЧЗ, була вірогідно меншою, ніж у тварин контрольної групи (табл. 1).

Як відомо, вміст фруктози в додаткових статевих залозах корелює з їх функціональною активністю і контролюється андрогенами. Визначення концентрації фруктози в КЗ показало, що застосування НЧЗ не спричиняло зміни вмісту вуглеводу в 1 мг тканини. Це спостереження співпадає з результатами гормональних досліджень, згідно яких концентрація Т у плазмі крові тварин дослідної групи не відрізнялась від такої у контрольних щурів. Також кількість сперматозоїдів у змивках з епідидимісів тварин усіх груп достовірно не відрізнялася (табл. 2).

Ці дані узгоджуються з результатами гістологічного дослідження. Основними продуцентами Т у самців є клітини Лейдига. У дослідній групі щурів, спостерігали острівці з клітин Лейдига, розміри яких не відрізнялись від таких у контрольних тварин. Клітини мали середній розмір, нормохромні ядра. У сім'яних каналцях спостерігали всі стадії сперматогенезу без видимих порушень.

Нечисленні дані літератури щодо здатності

Таблиця 1

Маса органів репродуктивної системи самців щурів (мг/100 г маси тіла) при застосуванні НЧЗ

№	Умови досліджу	n	ВП	КЗ	СП	Епідидиміси	Сім'яники
1	Конт- роль	8	101,66 ± 12,67	58,36 ± 9,06	119,56 ± 8,68	357,88 ± 16,85	1202,52 ± 59,14
2	ПВП	6	116,52 ± 16,90	59,70 ± 5,03	109,13 ± 9,83	335,25 ± 18,84	1210,80 ± 37,24
3	НЧЗ	6	87,05 ± 9,46	55,34 ± 5,11	92,60 ^a ± 6,77	342,53 ± 25,37	1238,56 ± 55,94

Примітка. а – $P < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 2

Вміст фруктози в КЗ, концентрація Т у плазмі крові та кількість сперматозоїдів у змивках із епідидимісів самців щурів при застосуванні НЧЗ

№	Умови досліджу	n	фруктози, мкмоль / мг тканини	Кількість сперматозоїдів, млн/мл	Т, нмоль/л
1.	Контроль	8	1,25 ± 0,08	22,02 ± 1,64	10,42 ± 2,16
2.	ПВП	6	1,31 ± 0,12	21,31 ± 1,97	11,51 ± 3,22
3.	НЧЗ	6	1,24 ± 0,09	19,13 ± 2,13	9,86 ± 2,46

НЧЗ проникати через біологічні бар'єри та спричиняти порушення морфофункціонального стану органів досить суперечливі. За даними одних авторів, НЧЗ розміром 5 і 20 нм не спричиняли змін морфологічної будови сім'яників, частинки металу були виявлені у вигляді прошарку всередині оболонки гонад [8]. Натомість, Західов С.Т. та співавтори показали, що НЧЗ розміром 2,5 нм індукували хромосомні мутації в ранніх сперматоцитах I порядку в сім'яниках мишей [5]. Напевно, це пов'язане з дуже малим розміром НЧЗ, завдяки якому нанозолото здатне проникати в ядро і спричиняти генотоксичну дію [1]. Можливо, саме наявність гематотестикулярного бар'єру перешкоджає потраплянню НЧЗ використаних нами розмірів до генеративних та гормонотворюючих структур гонад.

На відміну від сім'яників, гістологічна структура ВП у тварин, які отримували розчин колоїдного золота, була більш неоднорідною в порівнянні з контрольними групами (рис. 1). Поруч з ділянками, будова яких не відрізнялася від норми, розташовувались ацинуси, вистелені кубічним і

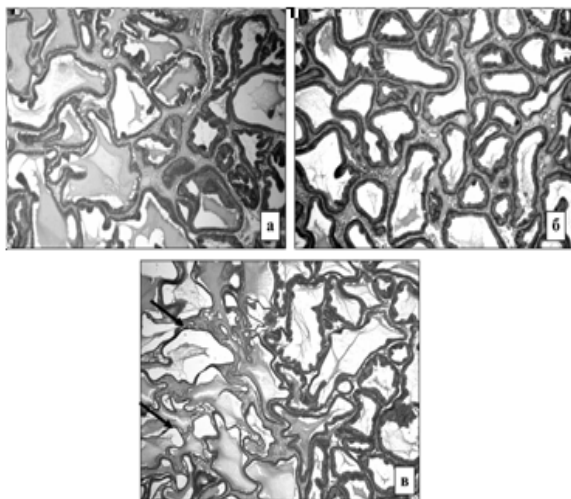


Рис. 1. Гістологічна будова вентральної частки передміхурової залози щурів, які отримували: а - фізіологічний розчин; б - ПВП; в - НЧЗ (ацинуси з кубічним та плоским епітелієм - стрілки).

висновок, що запальний процес у ВП спричиняють саме НЧЗ.

Висновок

Досліджений препарат НЧЗ при тижневому застосуванні не спричиняє токсичного впливу на репродуктивну систему самців щурів, за винятком активації запального процесу у ВП.

пласким епітелієм.

В епітелії спостерігали ознаки апокринової секреції: на апікальній частині формувалися випуклості (рис. 2а), які в подальшому відокремлюються в просвіт ацинуса (рис. 2б). Це свідчить про початкові стадії атрофічних змін. У стромі ВП частини тварин спостерігали набряк та значну лейкоцитарну інфільтрацію (рис. 2в, 2г). За даними літератури, введення НЧЗ лабораторним тваринам підвищує кількість лімфоцитів, лейкоцитів та тромбоцитів у крові і в інших органах тварин [10]. З цим узгоджуються дані наших експериментів, що вказують на наявність запального процесу та початкові прояви атрофічних змін у ВП щурів під дією використаного розчину НЧЗ.

ВП щурів, що отримували ПВП, мала таку саму структуру, як і у тварин, які отримували фізіологічний розчин. Зберігався високий циліндричний епітелій, в якому чітко спостерігали базофільну зернистість в апікальній та перинуклеарній частинах клітин, виділялася світла зона Гольджі, світле ядро з ядерцем. Отже, можемо зробити

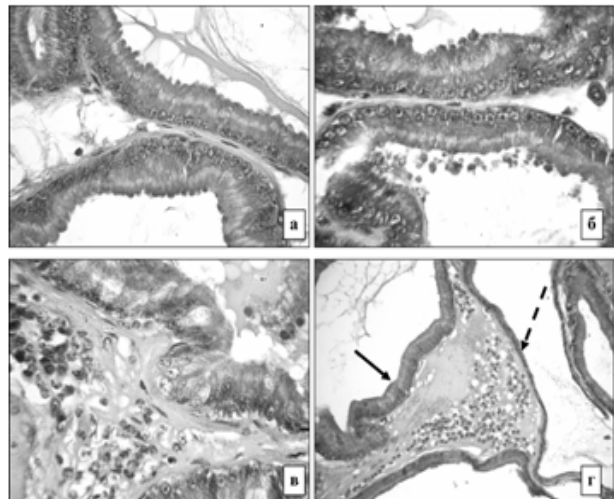


Рис. 2. Зміни гістологічної будови вентральної частки передміхурової залози щурів, які отримували НЧЗ: а - випуклості на апікальній частині епітеліоцитів; б - відокремлені апікальні частини епітеліоцитів у просвіті ацинуса; в - набряк та лейкоцитарна інфільтрація в стромі; г - високий циліндричний епітелій (суцільна стрілка), плоский епітелій (пунктирна стрілка).

Забарвлення - гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40х, ок. 10х (а, б, в), об. 20х, ок. 10х (г).

Перспективи подальших досліджень

Важливим є подальше дослідження впливу наночастинок золота на репродуктивну систему в довгострокових експериментах.

Література. 1. Аналіз генотоксичності наночастинок золота методом лужного гелі-електрофорезу ізольованих еукаріотичних клітин / С.М. Дибкова, Л.С. Резніченко, Т.Г. Грузіна [та ін.] // Доповіді НАНУ. - 2010. - №3. - С. 166 -

170. 2. Нанонаука і нанотехнології: технічний, медичний та соціальний аспекти / Б.С. Патон, В.Ф. Москаленко, І.С. Чекман [та ін.] // Вісник НАН України. - 2009. - №6. - С. 18-26. 3. Трахтенберг І.М. Обґрунтування доцільності створення і впровадження нормативно-методичної бази оцінки безпеки лікарських нанопрепаратів в Україні / І.М. Трахтенберг, З.Р. Ульберг, І.С. Чекман // Науковий Журнал МОЗ України. - 2014. - №2. - С. 20-26. 4. Аносов И.П. Основы гистологии / И.П. Аносов, Т.Е. Золотова. - К, 2002. - 307с. 5. Захидов С.Т. Влияние наночастиц золота на сперматогенез мышей / С.Т. Захидов, С.М. Павлюченкова, Т.Л. Маршак // Известия РАН. - 2012. - №3. - С. 279-287. 6. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Кочетов Г.А. - М.: Высшая школа, 1980. 7. Петровская Е.Г. Применение нанотехнологий в медицине и фармакологии / Е.Г. Петровская // Этика нанотехнологий та нанобезпека. Матеріали міжнародного семінару. - 2014. - №3. - С. 32-34. 8. Почепцов А.Я. Влияние наночастиц золота на пролиферативную активность половых клеток крыс / А.Я. Почепцов, Ю.И. Великородная, Б.Н. Филатов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2012. - №2. - С. 47-50. 9. Саноцкий И.В. Методы экспериментального исследования по устранению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования / Саноцкий И.В. - М.: МЗ СССР. Метод. Рекомендации, 1978. 10. In vivo study of spherical gold nanoparticles: inflammatory effects and distribution in mice / H Chen, A Dorrigan, S Saad [et al.] // PLoS One. - 2013. - N 8. - P. 58-68. 11. Gold Nanoparticles: Properties, Characterization and Fabrication / Ed. Chow P.E. N.Y.: Nova Science Publisher. - 2013. - 343 p. 12. Sahoo S.K. The present and future of nanotechnology in human health care / S.K. Sahoo, S Parveen, J.J. Panda // Nanomedicine. - 2007. - V 3. - N1. - P. 20-31. 13. Xu C. Size and concentration effect of gold nanoparticles on X-ray attenuation as measured on computed tomography / C Xu, G.A. Tung, S Sun // Chem Mater. - 2008. - V 20. - N13. - P. 4167-4169.

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА НА ОРГАНЫ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ САМЦОВ КРЫС

А.А. Саливоник, О.В. Сачинская, Л.И. Полякова, Л.В. Чайковская

Резюме. В работе исследовано влияние наночастиц золота со средним размером 26,4 нм, вводимые подкожно в дозе 5 мг/кг массы тела (по содержанию металла) в течение 7 дней, на органы репродуктивной системы половозрелых самцов крыс. Полученные результаты показали, что исследуемый препарат не оказал повреждающего воздействия на репродуктивную систему самцов, за исключением морфологических признаков воспалительного процесса в вентральной части предстательной железы.

Ключевые слова: семенники, предстательная железа, наночастицы золота, крысы.

EFFECT OF GOLD NANOPARTICLES ON REPRODUCTIVE ORGANS OF MALE RATS

O.A. Salivonyk, O.V. Sachynska, L.I. Polyakova, L.V. Chaikovska

Abstract. The influence of gold nanoparticles with an average size of 26.4 nm, administered subcutaneously at a dose of 5 mg/kg b.w. (for the metal content) during 7 days, on reproductive organs of mature male rats has been studied. The gold nanoparticles preparation did not affect the testicles and sexual accessory glands, with exception of the ventral prostate where morphological signs of inflammation were observed.

Key words: testes, prostate gland, gold nanoparticles, rats.

State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine"

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №2 (52). - P.176-179.

Надійшла до редакції 10.06.2015

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

© О.А. Саливоник, О.В. Сачинська, Л.І. Полякова,

Л.В. Чайковська, 2015