



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **121334** (13) **U**

(51) МПК (2017.01)

G09B 23/28 (2006.01)

C01B 33/12 (2006.01)

C01G 21/00

B82Y 5/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 08193**

(22) Дата подання заявки: **07.08.2017**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **27.11.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **27.11.2017, Бюл.№ 22**

(72) Винахідник(и):

**Бандас Ірина Андріївна (UA),
Куліцька Марія Іванівна (UA),
Павлишин Андрій Володимирович (UA),
Корда Михайло Михайлович (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ
ЗАКЛАД "ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ
ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ
УКРАЇНИ",
вул. Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001
(UA)**

(74) Представник:

Павлишин Андрій Володимирович

(54) СПОСІБ ВПЛИВУ НАНОЧАСТИНОК ДІОКСИДУ КРЕМНІЮ ТА АЦЕТАТУ СВИНЦЮ НА СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ, НИРОК ТА СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ

(57) Реферат:

Спосіб визначення впливу наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю на структурні зміни печінки, нирок та селезінки щурів полягає у тому, що піддослідним щурам щоденно внутрішньошлунково вводять колоїдний розчин наночастинок SiO₂ в дозі 50 мг/кг маси тіла тварин та ацетат свинцю у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг маси тіла (у перерахунку на свинець) протягом 3-х тижнів, що дає змогу визначити рівень негативного впливу поєднання наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю на морфологію печінки, нирок та селезінки щурів.

UA 121334 U

Корисна модель належить до нанотехнологій, а саме нанотоксикології, і може бути використана для попередження негативного впливу наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю на внутрішні органи при гігієнічному нормуванні в об'єктах навколишнього середовища.

Відомий спосіб полягає в тому, що моделювання впливу наночастинок діоксиду кремнію на гепатотоксичність свинцю виконують шляхом щоденного внутрішньошлункового введення колоїдного розчину наночастинок SiO_2 в дозі 50 мг/кг маси тіла тварин та ацетату свинцю у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг маси тіла (у перерахунку на свинець) протягом 3-х тижнів. Виведення тварин з експерименту проводилось шляхом кровопускання в умовах тіопентал-натрієвого наркозу через 21 добу від початку досліду з наступним забором крові для визначення біохімічних показників крові, а саме: аланін- та аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази, вмісту загального білка, загального білірубину, сечовини і креатиніну [1, 3].

Недоліком відомого способу є те, що він дає можливість дослідити вплив наночастинок діоксиду кремнію, які можуть бути присутні у довкіллі й харчовій продукції як контамінанти, на здатність посилювати гепатотоксичний ефект свинцю.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалити відомий спосіб шляхом забору у піддослідних тварин печінки, нирок та селезінки для гістологічного дослідження.

Запропонований спосіб визначення впливу наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю на структурні зміни печінки, нирок та селезінки щурів забезпечує переваги над відомим, адже дозволяє виявити рівень загрози для здоров'я організму білого щура, а саме гепато-, нефро- та спленотоксичності при з'єднанні наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю [2].

Поставлену задачу вирішують таким чином: проведено досліди на 40 безпородних білих щурах-самцях масою 150-160 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-а - інтактні щури (контроль); 2-а - щури, яким щоденно внутрішньошлунково вводили колоїдний розчин наночастинок SiO_2 в дозі 50 мг/кг маси тіла тварин протягом 3-х тижнів; 3-я - тварини, яким щоденно внутрішньошлунково вводили ацетат свинцю у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг маси тіла (у перерахунку на свинець) протягом 3-х тижнів для відтворення моделі підгострої свинцевої інтоксикації; 4-а - щури, яким щоденно вводили розчин наночастинок SiO_2 з ацетатом свинцю протягом 3-х тижнів у вищезазначених дозах. Інтактним тваринам щоденно внутрішньошлунково вводили відповідну кількість фізіологічного розчину. Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу через 21 добу від початку досліду. В експерименті використовували аморфний нанопорошок діоксиду кремнію (SiO_2 , 99+%, 20-30 nm) виробництва "US Research Nanomaterials, Inc." (США). Матеріалом для морфологічних досліджень стали фрагменти печінки, нирок та селезінки.

Для здійснення гістологічного дослідження матеріал (шматочки печінки, нирок, селезінки) фіксували в 10 % розчині забуференого нейтрального формаліну. Подальше проведення гістологічних препаратів здійснювалося згідно з загальноприйнятими методиками. Виготовлення серійних парафінових зрізів товщиною 4-6 мкм проводилося на санному мікроскопі. Фарбування препаратів здійснювалося гематоксиліном і еозином.

Гістологічне дослідження печінки експериментальної групи тварин, яким щоденно внутрішньошлунково вводили колоїдний розчин наночастинок SiO_2 , встановило незначні порушення, які проявлялись нерівномірним кровонаповненням центральних вен та синусоїдів і дрібновогнищевою ретикулоендотеліальною інфільтрацією. Помірно виражені розлади кровообігу розвивались також в кірковому і мозковому шарах нирок і проявлялись поодинокими стазами або спазмами в судинах артеріального русла. Деякі клубочки кіркового шару мали знижене кровонаповнення або були ішемізованими, в просвітах судин візуалізувались дещо гіпертрофовані ендотеліоцити. Базальні мембрани каналців не пошкоджувались, в інтерстиційній тканині розвивався помірний набряк. В білій пульпі селезінки спостерігалась незначна гіперплазія лімфоїдних фолікулів, яка проявлялась розширенням реактивних центрів за рахунок гіперплазії бластних клітин у центрах розмноження. Гіперплазія червоної пульпи відбувалась переважно за рахунок збільшення кількості сидеробластів та сидерофагів. У тварин 3-ї дослідної групи (ураження ацетатом свинцю) виявлено виражені структурні зміни досліджуваних органів. В печінці порушувалась часточкова будова та балкова організація гепатоцитів, спостерігалися явища дистрофії, які поєднувались із вогнищевими некротичними змінами. Гістологічне дослідження нирок встановило збільшення та повнокров'я клубочків, нерівномірне повнокров'я судин мозкового шару із дрібними периваскулярними крововиливами. Переважна більшість вивідних каналців розширювалась, в їх просвітах спостерігалися гіаліноподібні, оптично щільні включення. В епітеліоцитах також наростали дистрофічно-некротичні зміни.

В білій пульпі селезінки спостерігалось різке зменшення розмірів фолікулів. Кількість ретикулярних клітин гермінативних центрів периартеріальної ділянки зменшувалась, проте спостерігалась дрібновогнищева гіперплазія Т-лімфоцитів. Клітинний склад пульпи поповнювався макрофагами з фагоцитованими лімфоцитами або їх фрагментами у вигляді хромофільних тілець та детритних клітин, які виявлялись переважно в мантийних зонах. В ретикулярній тканині червоної пульпи з'являлись сидерофаги.

Гістологічне дослідження печінки тварин 4-ї експериментальної групи встановило, що структура печінкової часточки суттєво пошкоджувалась. Центральні вени та синусоїди розширювались, в розширених синусоїдальних капілярах візуалізувались вогнищеві скупчення зірчастих ретикулоендотеліоцитів. Балкова організація клітин порушувалась. Переважна більшість гепатоцитів різко змінювалась: міжклітинні зв'язки пошкоджувались, цитоплазма переважної більшості гепатоцитів різко просвітлювалась, містила різного розміру вакуолеподібні та зернисті включення. Лише в окремих клітин ядра залишались округлими з чіткими контурами, в переважній більшості клітин вони просвітлювались, зморщувались або зникали. Просвіти порталних трактів помірно розширювались, в основному за рахунок повнокров'я судин та вогнищевої периваскулярної лімфо- та гістіоцитарної інфільтрації.

При гістологічному дослідженні нирок тварин 4-ї групи встановлено виражене нерівномірне повнокров'я судин переважно венозного русла. В кірковому шарі розміри нефронів зростали за рахунок збільшення судинного клубочка, просвіту капсули і появи серозного ексудату. Артеріоли клубочка залишались розширеними і малокровними. Частина ендотеліоцитів зазнавала дистрофічно-некротичних змін, частина - мала виражені гіпертрофовані ядра. В нефроцитах зовнішнього листка капсули розвивались дистрофічні та вогнищеві некротичні зміни.

Переважає більшість вивідних каналців розширювались, в їх просвітах візуалізувались гіаліноподібні, оптично щільні різнокаліберні тільця. В епітеліоцитах проксимальних каналців розвивалась гіаліново-крапельна дистрофія з розвитком некрозів клітин та злуцненням їх у просвіти. В епітеліоцитах дистальних каналців найчастіше виявлялась гідропічна білкова дистрофія, яка супроводжувалась ектопією ядер та вогнищевими некрозами. Місцями спостерігалось пошкодження базальних мембран каналців. В інтерстиційній тканині розвивався помірний набряк та вогнищева лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація. Всі зазначені зміни відображають ішемію мембран клітин нефронів, яка трансформується в незворотні некробіотичні зміни в клубочках і каналцях.

Гістологічне дослідження селезінки щурів, яким вводили наночастинки SiO_2 разом з ацетатом свинцю, встановило виснаження лімфоїдної тканини з різким прогресуванням атрофії переважно білої пульпи. Візуально площа лімфоїдних фолікулів та розміри їх центрів розмноження різко зменшувались, межі між фолікулами ставали стертими, диференціація на зони не прослідковувалась. Периартеріальні ділянки "оголювались" внаслідок зменшення кількості В-лімфоцитів. Спостерігалось зменшення кількості проліферуючих В-лімфобластів, а в місцях їх незначного скупчення збільшувались явища каріорексису та апоптозу.

Ретикулярні волокна червоної пульпи потовщувались, ставали більш звивистими. Синуси розширювались, проте були малокровними. Кількість макрофагів та лімфоцитів в пульпі частково зменшувалась, а число зернистих лейкоцитів та тучних клітин та плазмоцитів зростало. В ядрах клітин спостерігались явища каріорексису та апоптозу. З'являлись поодинокі гігантські багатоядерні клітини - мегакаріоцити. Також спостерігалось різке збільшення кількості залізовмісного пігменту, що відображає процес загибелі еритроцитів. Поряд з цим виявлялось формування дифузних дрібновогнищевих скупчень лімфоцитів серед червоної пульпи по ходу судин.

Таким чином, при поєднаному впливі нано- SiO_2 та ацетату свинцю структурні зміни в печінці, нирках та селезінці піддослідних тварин були набагато вираженішими, ніж при введенні окремо наночастинок діоксиду кремнію чи розчину ацетату свинцю.

Отже, запропонований спосіб визначення впливу наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю на структурні зміни печінки, нирок та селезінки щурів, дозволяє стверджувати, наночастинки діоксиду кремнію, які можуть бути присутні у доквітлі й харчовій продукції як контамінанти, здатні посилювати токсичний ефект свинцю на внутрішні органи. Такий факт варто враховувати при гігієнічному нормуванні цього наноматеріалу в об'єктах навколишнього середовища.

Джерела інформації:

1. Бандас І.А. Вплив наночастинок діоксиду кремнію на гепатотоксичність свинцю / І.А. Бандас, М.І. Куліцька, М.М. Корда //Медична та клінічна хімія. - 2016. - Т. 18, № 2 (67). - С. 17-21.

2. Бандас І.А. Структурні зміни печінки, нирок та селезінки щурів при дії наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю / І.А. Бандас, М.І. Куліцька, М.М. Корда //Вісник проблем біології і медицини. - 2017. - Вип. 1 (135). - С. 322-327.

5 3. Патент на корисну модель 116049 Україна, МПК В82У 5/00, G01N 33/00, C01B 33/00, C01G21/00. Спосіб впливу наночастинок діоксиду кремнію на гепатотоксичність свинцю /М.М. Корда, А.В. Павлишин, М.І. Куліцька, І.А. Бандас; заявник та патентовласник Терн. держ. мед. ун-т. - № u201610416; заявл. 13.10.2016; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10

Спосіб визначення впливу наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю на структурні зміни печінки, нирок та селезінки щурів, який **відрізняється** тим, що піддослідним щурам щоденно внутрішньошлунково вводять колоїдний розчин наночастинок SiO_2 в дозі 50 мг/кг маси тіла тварин та ацетат свинцю у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг маси тіла (у перерахунку на свинець) протягом 3-х тижнів, що дає змогу визначити рівень негативного впливу поєднання наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю на морфологію печінки, нирок та селезінки щурів.

15

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601