

© Коллектив авторов, 2013
УДК 576.36:611.06:599.323.4

Е. А. Сизова, С. А. Мирошников, В. С. Полякова, С. В. Лебедев и Н. Н. Глущенко

НАНОЧАСТИЦЫ МЕДИ — МОДУЛЯТОРЫ АПОПТОЗА И СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В НЕКОТОРЫХ ОРГАНАХ

Кафедра общей биологии (зав. — канд. биол. наук Е. А. Сизова), лаборатория сельскохозяйственной биоэлементологии (зав. — д-р биол. наук С. В. Лебедев), Институт биоэлементологии, Оренбургский государственный университет; лаборатория минерального питания (зав. — проф. С. А. Мирошников), Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства Россельхозакадемии, г. Оренбург; кафедра патологической анатомии (зав. — проф. В. С. Полякова), Оренбургская государственная медицинская академия Росздрава; лаборатория биологического воздействия наноструктур (зав. — проф. Н. Н. Глущенко), Институт энергетических проблем химической физики РАН, Москва

На 78 крысах-самцах линии Вистар проведено изучение влияния многократного внутримышечного введения в организм наночастиц меди (НЧМ) диаметром 103 нм на показатель готовности клеток к апоптозу и структуру печени, селезенки, почек и сенсомоторной зоны коры большого мозга. Введение НЧМ проводили 1 раз в неделю на протяжении 12 нед. Изучаемые органы исследовали с использованием гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов. Установлено, что НЧМ распределяются по органам и тканям животных, вызывая специфические для каждой ткани структурные изменения. Токсичность по отношению к микроглиоцитам НЧМ проявляют в дозе 2 мг/кг, гепатотоксичность и нефротоксичность — 6 мг/кг. Увеличение нагрузки НЧМ на организм, вплоть до порогов токсического действия (максимально переносимой дозы), приводит к появлению признаков дистрофии и некроза тканей. Полученные данные позволяют предложить в качестве критерия для оценки безопасности введения НЧМ в организм — показатель готовности клеток к апоптозу, определенные по экспрессии каспазы-3.

Ключевые слова: печень, селезенка, почки, головной мозг, наночастицы меди

В литературе описаны как позитивные, так и негативные эффекты контакта наноматериалов и живых систем. Так, созданы повязки с кристаллическим серебром для лечения ран, ожогов, трофических язв [17]. Различия влияния солей металлов и наночастиц металлов на биологические объекты связаны с особенностями их физико-химических и биологических свойств: токсичность наночастиц металлов в 7–50 раз меньше, чем солей, они оказывают полифункциональное и пролонгированное действие, легко проникают во все органы и ткани, в биотических дозах стимулируют обменные процессы и т. д. [3, 7, 9, 11]. В то же время, наночастицы могут оказывать на живые системы патологическое действие и приводить к гибели, например, изменения в легких при интратрахеальной затравке наночастицами углерода, формирование отека мозга и нарушение функции гематоэнцефалического барьера при действии

наночастиц серебра, меди, алюминия, кремния, углерода и металлических оксидов [13, 16, 18]. Изучены степень повреждения ДНК и токсичность наночастиц оксидов различных металлов [12, 15].

В то же время, отсутствуют сведения об изменении структурно-функционального состояния тканей животных при увеличении нагрузки металлами в виде наночастиц на организм, отсутствуют критерии, по которым можно решить вопрос о безопасности введения данного наноматериала. В связи с этим целью настоящей работы было исследование изменения показателя апоптоза и структуры тканей при увеличении нагрузки наночастицами меди (НЧМ) на организм.

Материал и методы. Исследования проведены в условиях экспериментально-биологической клиники Оренбургского государственного университета на 78 (39 подопытных и 39 контрольных) белых крысах-самцах линии

Сведения об авторах:

Сизова Елена Анатольевна (e-mail: Sizova.L78@yandex.ru.), кафедра общей биологии, *Лебедев Святослав Валерьевич* (e-mail: inst_bioelement@mail.ru.), лаборатория сельскохозяйственной биоэлементологии, Институт биоэлементологии, Оренбургский государственный университет; 460018, Оренбург, пр. Победы, 13;

Мирошников Сергей Александрович (e-mail: vniims.or@mail.ru.), лаборатория минерального питания, Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства Россельхозакадемии;

Полякова Валентина Сергеевна, кафедра патологической анатомии, Оренбургская государственная медицинская академия Росздрава, 460011, Оренбург, ул. Советская, 6;

Глущенко Наталья Николаевна (e-mail: nnglu@mail.ru.), лаборатория биологического воздействия наноструктур, Институт энергетических проблем химической физики РАН, 119334, Москва, В-334, Ленинский пр., 38, корп. 2

Вистар массой 150–180 г, находившихся в стандартных условиях вивария на естественном для грызунов корме, которым 1 раз в неделю на протяжении 12 нед вводили (всего 12 инъекций) в бедренную группу мышц суспензию НЧМ в дозе 2,0 мг/кг массы животного. Экспериментальные исследования проводили в соответствии с инструкциями, рекомендуемыми Российским Регламентом, 1987 г. и «The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D. C. 1996)». НЧМ получали методом высокотемпературной конденсации с последующей модификацией кислородом на установке Миген-3 (ИХФ РАН им. Н. Н. Семенова, Россия) [4]. Средний размер НЧМ составляет $103,0 \pm 2,0$ нм; кристаллической меди в ядре частиц содержится $96 \pm 4\%$, меди оксида — $4,0 \pm 0,4\%$; толщина оксидной пленки на поверхности наночастиц — 6 нм [1]. Диспергирование нанопорошка меди проводили в изотоническом растворе на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2Т (Укрросприбор, Украина) в режиме: 3-кратное диспергирование по 1 мин с перерывом 3 мин. Животных декапитировали под нембуталовым наркозом по следующей схеме: через 3 ч, 1, 3, 7 сут после каждой инъекции. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду и умерщвляли в те же сроки. На каждую временную точку в опыте и контроле приходилось по 3 животных.

Фармакотоксическая зона модифицированных НЧМ начинается с максимально переносимой (МПД) дозы 10 мг/кг, LD_{50} составляет 15 мг/кг, LD_{100} — 30 мг/кг массы животного [1, 9]. Учитывая эти данные, для изучения структурно-функционального статуса органов и тканей животных при увеличении на организм нагрузки НЧМ, была взята однократная доза введения 2 мг/кг массы животного, позволяющая при 5-кратном введении НЧМ достичь МПД — 10 мг/кг массы животного, при 12-кратном введении — дозы, близкой к LD_{100} — 24 мг/кг массы животного.

Для световой микроскопии и иммуногистохимического исследования селезенку, печень, почки, кору большого мозга фиксировали в 10% нейтральном формалине. Парафиновые срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином Майера — эозином. При помощи окулярной точечной сетки вставив в селезенку определяли объемную плотность белой пульпы, герминативных центров, периартериальных лимфоидных муфт.

Готовность клеток различных тканей к апоптозу при увеличении на организм нагрузки НЧМ оценивали по экспрессии каспазы-3. Иммуногистохимические исследования проводили на парафиновых срезах, используя моноклональные антитела (к каспазе-3) и систему визуализации (Bio Genex Super Sensitive Detection System, США). Определяли долю иммунопозитивных клеток из 1000 гепатоцитов, эпителиоцитов проксимальных канальцев почек, клеток белой пульпы селезенки и выражали в промилле. Количество глиоцитов, экспрессирующих каспазу-3, в коре большого мозга подсчитывали на условной единице площади среза. Для выявления НЧМ в исследуемых органах был применен метод с солянокислым бензидином и тиоцианатом аммония [8].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ «Statistica 5.5 for Windows» и программного пакета «MS Excel 2000». Значимость различий сравниваемых показателей определяли по t-критерию Стьюдента и считали значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты исследования. После введения в мышцу НЧМ в дозе 2,0 мг/кг массы

тела они в мышце не выявлялись, что связано с быстрым их проникновением в сосуды.

При исследовании печени через 3 ч после однократного внутримышечного введения НЧМ они были видны в васкулярной части перипортальных гепатоцитов и в цитоплазме звездчатых макрофагов. Через 3 сут после введения НЧМ исчезали.

В перипортальных гепатоцитах появлялись признаки гидропической дистрофии, которая не выявлялась при исследовании органа через 7 сут после однократного введения наночастиц металла.

При повторном через 1 нед внутримышечном введении НЧМ последние выявлялись, преимущественно, в васкулярной части перипортальных гепатоцитов. При этом через 1 сут после 2-й инъекции наночастиц металла в васкулярной части перипортальных гепатоцитов выявлялись признаки гидропической дистрофии и тельца Каунсильмена (рис. 1, а).

При исследовании структурной организации селезенки в ответ на увеличение на организм нагрузки медью было установлено, что ее наночастицы обнаруживались в красной пульпе, преимущественно в макрофагах, в 1-е сутки после внутримышечного введения металла и сохранялись в них после последующих введений. Однократное введение НЧМ не нарушало структуру селезенки, но способствовало умеренному повышению функциональной активности белой пульпы, о чем свидетельствовало повышение ее объемной плотности, а также объемной плотности герминативных центров, периартериальных лимфоидных муфт и увеличение численности клеток на условной единице площади среза в этих зонах. Морфометрические показатели белой пульпы после 2 и 3 инъекций НЧМ также свидетельствовали о повышении ее функциональной активности. Более значимые изменения морфометрических показателей белой пульпы наблюдались на 7-е сутки после повторного введения НЧМ. Увеличение объемной плотности лимфоидных узелков после 2-го введения НЧМ происходило не только за счет герминативных центров, где происходят процессы бластной трансформации и размножения лимфоцитов, но в большинстве узелков за счет мантийной и краевой зон, где происходят процессы дифференцировки и выход клеток в красную пульпу.

НЧМ были выявлены в эпителиоцитах проксимальных канальцев почек на 1-е сутки после их однократного внутримышечного введения. В клетках некоторых канальцев были обнаружены признаки гиалиново-капельной и гидропической дистрофии. Однако эти нарушения не выявлялись через 7 сут после однократного введения

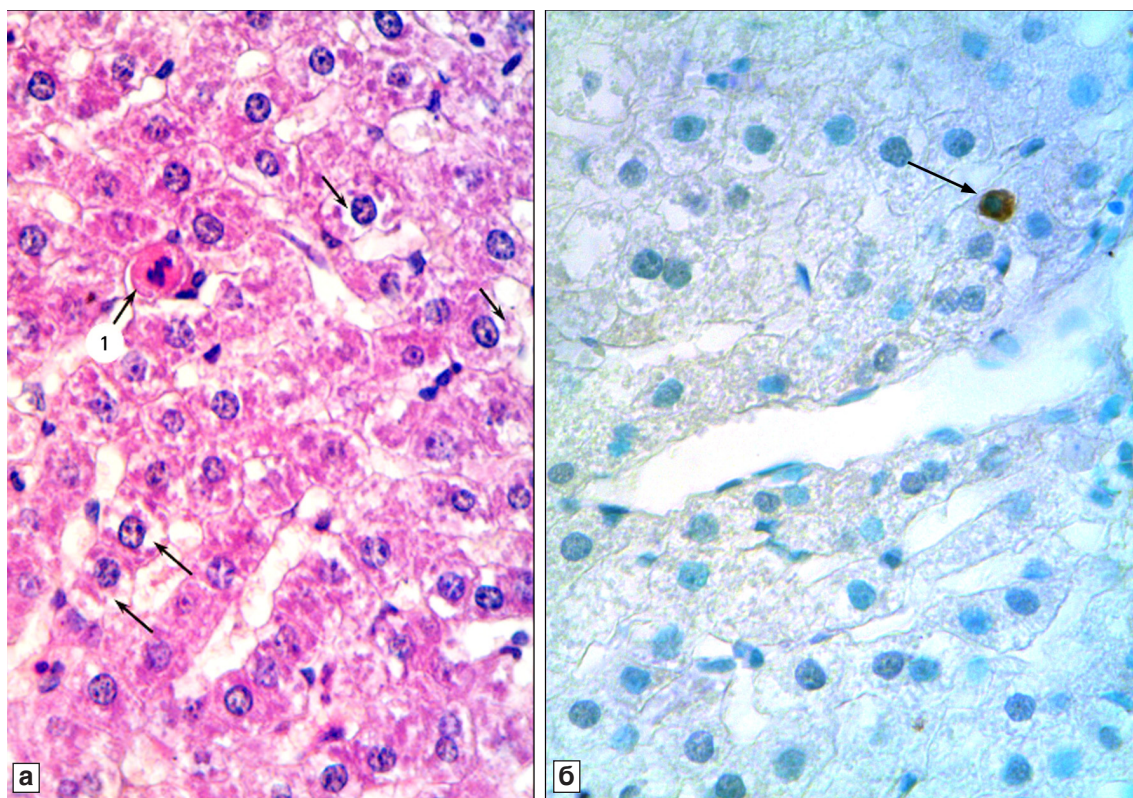


Рис. 1. Печень крысы через 1 сут после повторного внутримышечного введения наночастиц меди в дозе 2 мг/кг массы животного.

а — гепатоциты с признаками гидропической дистрофии и вакуализацией цитоплазмы (стрелки); 1 — тельце Каунсильмена; б — гепатоцит, экспрессирующий каспазу-3 (стрелка). а — гематоксислин Майера — эозин; б — иммуногистохимическая реакция на каспазу-3. Ув. 600

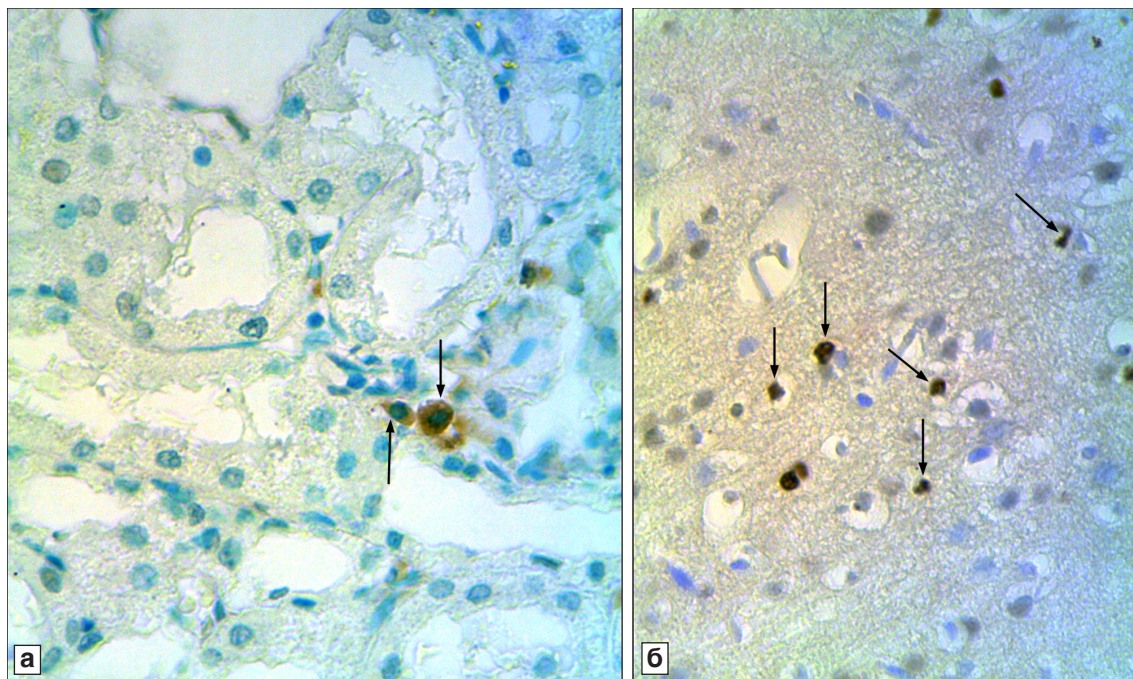


Рис. 2. Кортикальное вещество почки (а) и сенсомоторная зона коры большого мозга (б) крысы на 7-е сутки после однократного внутримышечного введения наночастиц меди в дозе 2 мг/кг массы животного.

а — макрофаги, экспрессирующие каспазу-3 (стрелки); б — микроглиоциты, экспрессирующие каспазу-3 (стрелки). Иммуногистохимическая реакция на каспазу-3. Ув. 600

наночастиц. Почечные тельца не были изменены, но в интерстициальной ткани чаще, чем в контроле, встречались макрофаги, экспрессирующие каспазу-3 (рис. 2, а). После 2-й и, особенно после 3-й, инъекции НЧМ количество канальцев с явлениями белковой дистрофии увеличивалось. В канальцах обнаруживались эпителиоциты с признаками некроза, выявлялись также локальные повреждения базальной мембраны эпителия канальцев.

После однократного введения НЧМ в сенсомоторной зоне коры большого мозга структурных изменений у животных подопытной группы не выявлено. Метод окраски с бензидином не дал положительного результата, вероятно, из-за малого количества наночастиц, поступивших в тканевые элементы мозга.

В печени у контрольных животных экспрессия каспазы-3 была обнаружена только в центроlobулярных гепатоцитах (таблица). После повторного введения НЧМ клетки, содержащие каспазу-3, встречались и среди перипортальных гепатоцитов (см. рис. 1, б). Различие показателей экспрессии маркеров готовности гепатоцитов к апоптозу значимо увеличивалось по сравнению с контролем через 3 и 7 сут после 3-кратного введения НЧМ — через 7 сут в 2 раза (см. таблицу).

При иммуногистохимическом исследовании селезенки было выявлено, что на 7-е сутки после 12-й инъекции доля клеток, экспрессирующих каспазу-3 в лимфоидных узелках, достигала максимума, что свидетельствовало о повышении их готовности к апоптозу (см. таблицу).

После 3-й инъекции НЧМ значимо — в 2,5 раза ($P < 0,05$) по сравнению с контролем (см. таблицу) — увеличивалась готовность эпителиоцитов проксимальных канальцев почек к апоптозу.

Иммуногистохимическое выявление клеток, содержащих каспазу-3, в сенсомоторной зоне коры большого мозга позволило обнаружить готовность клеток к запрограммированной гибели среди микроглиоцитов. Нервных клеток, экспрессирующих каспазу-3, в разные сроки после однократного внутримышечного введения НЧМ (1-, 3-, 7-, 14-е сутки) не обнаружено. Показатель экспрессии каспазы-3 микроглиоцитами через 1 и 3 сут после введения НЧМ меди увеличивался незначимо по сравнению с контролем. Однако через 7 сут после однократного введения экспрессия каспазы-3 в микроглиоцитах (рис. 2, б) увеличивалась в 3 раза по сравнению с контролем, а через 14 сут — снижалась до показателей у контрольных животных (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. Результаты настоящего исследования свидетель-

ствуют о том, что при внутримышечном введении НЧМ легко проникают во все органы и ткани. В зависимости от типа ткани, суммарной дозы вводимых наночастиц и времени ответа в них наблюдаются специфические структурные изменения. При увеличении нагрузки НЧМ (суммарные дозы 4 и 6 мг/кг массы животных) в исследованных тканях были обнаружены явления дистрофии и некроза.

На фоне структурной реорганизации тканей при действии НЧМ происходят изменения показателя готовности клеток к апоптозу, так как микроэлементы способны модулировать апоптоз, т. е. по-разному влиять в зависимости от дозы [2, 5, 6].

Следовательно, при увеличении нагрузки на организм НЧМ, помимо структурной реорганизации тканей, происходит значимое усиление экспрессии каспазы-3 в микроглиоцитах коры большого мозга через 7 сут после однократного внутримышечного введения наночастиц меди (доза 2 мг/кг массы животного), в гепатоцитах — через 3, 7 сут после 3-кратного внутримышечного введения НЧМ (суммарная доза — 6 мг/кг массы животного), в эпителиоцитах проксимальных канальцев почек — через 3 ч, 1, 3, 7 сут после 3-кратного внутримышечного введения наночастиц меди (суммарная доза — 6 мг/кг массы животного), в клетках лимфоидных узелков селезенки через 3 ч, 1, 3, 7 сут после 12-кратного внутримышечного введения НЧМ (суммарная доза — 24 мг/кг массы животного).

Полученные данные свидетельствуют о высокой биологической активности НЧМ при введении в организм. В сенсомоторной коре большого мозга наиболее чувствительными к действию НЧМ в дозе 2 мг/кг оказались микроглиоциты. Хотя действие на них по показателю готовности клеток к апоптозу оказалось обратимым (через 2 нед после 1-кратного введения НЧМ в дозе 2 мг/кг этот показатель не отличался от такового в контроле), однако его реализация при дальнейшем увеличении дозы вводимых наночастиц может привести к потере клеток и вызвать нейродегенеративные процессы в коре большого мозга. Подобный эффект описан при исследовании наночастиц оксида меди на модели нейробластомы мышей, генотоксический эффект которых связан с фрагментацией, метилированием ДНК и хромосомными повреждениями при концентрации в среде 400 мг/л [14]. Гепатотоксичность и нефротоксичность НЧМ проявляются в дозе 6 мг/кг. При этом, готовность к апоптозу наблюдается в припортальных гепатоцитах после 3 сут, в эпителиоцитах канальцев почек — через 3 ч после

Доля клеток, экспрессирующих антиген каспазы-3, при многократном внутримышечном введении наночастиц меди в дозе 2 мг/кг массы крысы ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Количество введений наночастиц меди	Срок после введения	Объект исследования							
		Гепатоциты		Эпителиоциты проксимальных канальцев почки		Клетки лимфоидных узлов селезенки		Микроглиоциты сенсомоторной коры большого мозга	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1-е	3 ч	0,70±0,02	0,70±0,04	24,1±0,6	26,3±0,9	1,8±0,6	2,2±0,4	—	—
	1 сут	0,70±0,03	0,65±0,04	24,1±0,6	25,8±0,7	2,0±0,4	2,5±0,6	1,5±0,4	1,70±0,20
	3 сут	0,70±0,02	0,80±0,02	24,1±0,6	27,2±0,5	1,7±0,5	2,0±0,3	1,5±0,4	1,80±0,10
	7 сут	0,70±0,02	0,75±0,03	24,1±0,6	24,6±0,8	2,2±0,3	3,5±0,5	1,5±0,4	4,6±0,3*
	14 сут	—	—	—	—	—	—	1,5±0,4	1,4±0,3
2-е	3 ч	0,70±0,02	0,90±0,05	24,1±0,6	25,5±0,9	1,9±0,4	2,8±0,3	—	—
	1 сут	0,70±0,02	0,70±0,03	24,1±0,6	27,10±0,20	2,10±0,20	2,6±0,4	—	—
	3 сут	0,67±0,02	0,60±0,05	24,1±0,6	26,1±0,6	2,0±0,3	3,2±0,5	—	—
	7 сут	0,70±0,02	0,71±0,05	24,1±0,6	29,1±0,7	2,3±0,5	1,90±0,20	—	—
	14 сут	—	—	—	—	—	—	—	—
3-е	3 ч	0,70±0,02	0,68±0,04	24,1±0,6	32,1±1,8*	—	—	—	—
	1 сут	0,70±0,02	1,0±0,04	24,1±0,6	36,1±2,6*	—	—	—	—
	3 сут	0,70±0,02	1,10±0,03*	24,1±0,6	44±4*	—	—	—	—
	7 сут	0,70±0,02	1,50±0,06*	24,1±0,6	60±3*	—	—	—	—
	14 сут	—	—	—	—	—	—	—	—
12-е	3 ч	—	—	—	—	2,0±0,10	5,1±0,4*	—	—
	1 сут	—	—	—	—	2,4±0,4	5,7±0,3*	—	—
	3 сут	—	—	—	—	2,3±0,7	6,9±0,5*	—	—
	7 сут	—	—	—	—	2,5±0,7	8,3±0,4*	—	—

* Различия значимы по сравнению с контролем при $P < 0,05$.

3-кратного введения НЧМ. Наименее чувствительной к действию НЧМ оказалась селезенка: в клетках лимфоидных узлов повышается экспрессия каспазы-3 в ответ на введение НЧМ в дозе 24 мг/кг, т. е. близкой к LD_{100} .

Нами установлено, что НЧМ являются модуляторами апоптоза. Аналогичной особенностью обладают наночастицы серебра, на основе которых предложены повязки для лечения гнойных ран, трофических язв и ожогов. Благодаря этому свойству нанокристаллическое серебро сокращает воспалительную стадию заживления ран и облегчает, таким образом, течение его начального периода [7].

Кроме того, на основании проведенных исследований, очевидно, что показатель готовности клеток к апоптозу отражает начавшиеся необратимые структурные изменения независимо от специфики реакции ткани на введение НЧМ. Это дает нам основание предложить показатель апоптоза в качестве критерия для оценки безопасности введения НЧМ в организм живых систем. По этому показателю можно судить о допустимых дозах вводимого металла, об органах-мишенях,

установить оптимальные и безопасные способы введения наночастиц в организм для дальнейшего использования их в составе лекарственных средств и биопрепаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований № 11-04-97077-р_поволжье_а.

ЛИТЕРАТУРА

- Богословская О. А., Сизова Е. А., Полякова В. С. и др. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных. Вестн. Оренбургского гос. ун-та, 2009, № 2, с. 124–127.
- Глуценко Н. Н., Ольховская И. П., Плетенева Т. В. и др. Биологическое действие высокодисперсных порошков металлов. М., Изв. РАН, 1989, № 3, с. 415–419.
- Глуценко Н. Н., Богословская О. А. и Ольховская И. П. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов. Химическая физика, 2002, т. 21, № 4, с. 79–85.
- Жигач А. Н., Лейпунский И. О., Кусков М. Л. и др. Установка для получения и исследования физико-химических свойств наночастиц металлов. Приборы и техника эксперимента, 2000, № 6, с. 122–127.

5. Калетина Н. И. и Калетин Г. И. Микроэлементы — биологические регуляторы. В кн.: Наука в России. М., Изд-во РАН, 2007, № 1, с. 50–54.
6. Кудрин А. В. и Жаворонков А. А. Роль микроэлементов и кальция в регуляции апоптоза. Успехи соврем. биол., 1998, т. 118, вып. 1, с. 623–629.
7. Патент № 2306141. Препарат, ускоряющий ранозаживление. Т. А. Байтукалов, Н. Н. Глущенко, О. А. Богословская, И. П. Ольховская, И. О. Лейпунский, А. Н. Жигач, Э. А. Шафрановский. Заявка 28.12.2005. Оpubл. в БИ, 2007, № 26.
8. Пирс Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная. М., Изд-во иностр. лит-ры, 1962.
9. Рахметова А. А., Алексеева Т. П., Богословская О. А. и др. Ранозаживляющие свойства наночастиц меди в зависимости от их физико-химических характеристик. Российские нанотехнологии, 2010, т. 5, № 3–4, с. 102–108.
10. Сизова Е. А., Полякова В. С. и Глущенко Н. Н. Морфофункциональная характеристика селезенки крыс при внутримышечном введении наночастиц меди. Морфология, 2010, т. 137, вып. 4, с. 173–176.
11. Сизова Е. А., Холодильникова Т. Н., Мирошников С. А. и др. К разработке критериев безопасности наночастиц металлов при введении их в организм животных. Вестн. Российской академии сельскохозяйственных наук, 2011, № 1, с. 40–42.
12. Karlsson H. L., Cronholm P., Gustafsson J. and Möller L. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. Chem. Res. Toxicol., 2008, v. 21, № 9, p. 1726–1732.
13. Lei R., Wu G., Yang B. et al. Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats: a rapid in vivo screening method for nanotoxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol., 2008, v. 232, № 2, p. 292–301.
14. Perreault F., Pedrosa Melegari S., Henning da Costa C. et al. Genotoxic effects of copper oxide nanoparticles in Neuro 2A cell cultures. Sci. Total Environ., 2012, v. 441, p. 117–124.
15. Shvedova A. A. and Kagan V. E. The role of nanotoxicology in realizing the 'helping without harm' paradigm of nanomedicine: lessons from studies of pulmonary effects of single-walled carbon nanotubes. J. Intern. Med., 2010, v. 267, № 1, p. 106–118.
16. Wang J., Rahman M. F., Duhart H. M. et al. Expression changes of dopaminergic system-related genes in PC12 cells induced by manganese, silver, or copper nanoparticles. Neurotoxicology, 2009, v. 30, № 6, p. 926–933.
17. Wright J. B., Lam K., Buret A. G. et al. Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing. Wound Repair Regen., 2002, v. 10, № 3, p. 141–151.
18. Yang Z., Liu Z. W., Allaker P. P. et al. A review of nanoparticle functionality and toxicity on the central nervous system. J. R. Soc. Interface., 2010, Suppl. 4, p. 313–332.

Поступила в редакцию 25.01.2013

Получена после доработки 16.06.2013

COPPER NANOPARTICLES AS MODULATORS OF APOPTOSIS AND STRUCTURAL CHANGES IN SOME ORGANS

Ye. A. Sizova, S.A. Miroshnikov, V. S. Polyakova, S. V. Lebedev and N. N. Glushchenko

The effect of repeated intramuscular injection into the organism of copper nanoparticles (CNP) with the diameter of 103 nm on the index of cell readiness to apoptosis and the structure of liver, spleen, kidney, as well as sensorimotor cerebral cortex, was studied in 78 male Wistar rats. CNP were injected once per week for 12 weeks. The organs were studied using histological, immunohistochemical and morphometric methods. It was found that after the injections, CNP were distributed into organs and tissues of animals causing structural changes that were specific for each tissue. Toxicity of CNP in respect to microglial cells was demonstrated at a dose of 2 mg/kg, hepatotoxicity and nephrotoxicity — at 6 mg/kg. The increase of CNP load on the organism up to toxic threshold (maximum tolerated dose) resulted in the appearance of signs of dystrophy and tissue necrosis. The data obtained suggest the application of an index of cell readiness to apoptosis, as assessed by caspase 3 expression, as a criterion for evaluation of CNP injection safety.

Key words: *liver, spleen, kidney, sensorimotor cerebral cortex, copper nanoparticles*

Department of General Biology, Laboratory of Agricultural Bioelementology, Institute of Bioelementology, Orenburg State University; Laboratory of Mineral Nutrition, All-Russian Scientific Research Institute of Meat Cattle Breeding, Orenburg; Department of Pathological Anatomy, Orenburg State Medical Academy; Laboratory of Nanoparticle Biological Effect, RAS Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Moscow