

УДК 57.086.2

Федорова А. М., Хисматуллина З. Р., Шарафутдинова Л. А.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС НА ФОНЕ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА

Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Российская Федерация

Аннотация. Целью работы явилось исследование влияния перорального введения наночастиц диоксида титана рутильной модификации в дозе 10 мг/кг веса на морфофункциональные особенности щитовидной железы крыс.

Объекты исследования: 3 группы животных: контрольная группа крыс ($n = 8$), опытные группы крыс, получавшие перорально НЧ диоксида титана в течение 14 дней ($n = 8$) и 28 дней ($n = 9$).

Методика работы: морфологический и морфометрический анализ показателей щитовидной железы: средний диаметр фолликулов (мкм), высота (мкм) и средняя площадь (мкм²), фолликулярных тироцитов, индекс Брауна.

Основные результаты: в щитовидной железе животных, которым перорально вводили нанодисперсный диоксид титана рутильной модификации в дозе 10 мг/кг веса, происходят морфологические изменения, заключающиеся в преобладании кистоподобных фолликулов, уменьшении высоты фолликулярного эпителия, увеличении средней площади фолликулов, что может свидетельствовать о гипофункции органа.

Ключевые слова: щитовидная железа, наночастицы, диоксид титана.

Fedorova A. M., Khismatullina Z. R., Sharafutdinova L. A.

STUDY OF MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE THYROID GLAND OF RATS DUE TO ORAL INJECTION OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES

Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russian Federation

Abstract. The purpose of the work was to study the effect of oral administration of titanium dioxide nanoparticles of rutile modification at a dose of 10 mg/kg body weight on the morphofunctional characteristics of the thyroid gland of rats.

Subjects of the study: 3 groups of animals: a control group of rats ($n = 8$), experimental groups of rats that received titanium dioxide NPs orally for 14 days ($n = 8$) and 28 days ($n = 9$).

Methods of work: morphological and morphometric analysis thyroid indicators: average follicle diameter (μm), height (μm) and average area (μm^2), follicular thyrocytes, Brown index.

Main results: in the thyroid gland of animals that were orally administered nano-dispersed titanium dioxide of rutile modification at a dose of 10 mg/kg body weight,

morphological changes occur, consisting in the predominance of cyst-like follicles, a decrease in the height of the follicular epithelium, and an increase in the average area of the follicles, which may indicate hypofunction of the organ.

Keywords: thyroid gland, nanoparticles, titanium dioxide.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы растет интерес к изучению влияния наночастиц диоксида титана (НЧ TiO_2) на структурно-функциональное состояние различных тканей и органов человека и животных. Биологическая безопасность для человека является необходимой как в производственных условиях, когда человек не имеет возможности избежать контакта, так и в результате непреднамеренного употребления, когда вещество входит в состав промышленных, продовольственных, косметических и фармакологических товаров [1, 2]. НЧ TiO_2 являются одними из наиболее производимых и широко используемых как в чистом виде, так и в составе наноматериалов. Ряд уникальных потребительских свойств обуславливает их высокую востребованность в различных отраслях промышленности, медицине и косметологии [3, 4].

Вместе с тем существует оправданное опасение, что их небольшие размеры и очень высокая удельная поверхность (в расчете на единицу массы), а также значительная реакционная способность позволяет им при попадании в организм беспрепятственно преодолевать биологические барьеры, увеличивать продукцию активных форм кислорода, что приводит к повреждению внутриклеточных структур [5].

Хорошо известно, что наибольшую опасность для здоровья человека представляет нарушение работы регуляторных систем, к которым относятся эндокринная, нервная и репродуктивная. Показано, что различные НЧ способны нарушать работу эндокринной системы. Щитовидная железа является важнейшей эндокринной железой, поэтому нарушение гомеостаза щитовидной железы сказывается на энергетическом тоне всех органов и систем, в том числе и на деятельности центральной нервной системы [6]. Щитовидная железа очень чувствительна к действию эндокринных дизрапторов, и, учитывая важность щитовидной железы для физического и когнитивного здоровья, изучение влияния НЧ на морфологические особенности щитовидной железы следует считать приоритетным.

Целью работы явилось исследование влияния перорального введения наночастиц диоксида титана рутинной модификации в дозе 10 мг/кг веса на морфофункциональные особенности щитовидной железы у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на лабораторных крысах-самцах породы Вистар массой тела 180–200 г половозрелого возраста. Крысы были случайным образом поделены на 3 группы: контрольная группа крыс ($n = 8$), первая опытная группа — крысы, получающие перорально НЧ диоксида титана в течение 14 суток ($n = 8$), вторая опытная группа — крысы, получающие перорально НЧ диоксида титана в течение 28 суток ($n = 9$). Животные содержались в виварии кафедры физиологии и общей биологии Уфимского университета науки и технологий при комнатной температуре 20–22 °С в стандартных клетках по 3–4 животных без

ограничения подвижности, освещенности и доступа к воде и пище, на сбалансированном рационе.

Для исследований применяли нанодисперсный TiO_2 рутильной модификации, размер наночастиц 40–60 нм, с массовой долей вещества не менее 99,9% (ЗАО «Промхимпермь», Пермь). НЧ TiO_2 получали разведением в дистиллированной воде, полученную суспензию давали животным перорально в дозе 10 мг/кг (до 2 мг сухого вещества растворяли в 1 мл воды) при помощи шприца с удлиненным мягким наконечником. Для устранения агрегации наночастиц суспензию обрабатывали в ультразвуковой ванне. Крысы получали свежеприготовленную суспензию однократно в утреннее время, пищевая депривация была за 12 часов до введения раствора без ограничения доступа к питьевой воде. После введения раствора доступ к воде и пище возобновлялся через 60–80 минут. Животные контрольной группы получали дистиллированную воду.

Через 14, 28 суток животных выводили из эксперимента передозировкой эфирного наркоза. При работе руководствовались приказом № 742 от 13.11.1984 «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Проведенное исследование одобрено локальным этическим комитетом Уфимского университета науки и технологий (протокол № 2 от 15.02.2022).

Образцы щитовидной железы крыс фиксировали в нейтральном 10%-ном формалине по Лилли, обезживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Готовили серию фронтальных срезов толщиной 10–12 мкм. Всего было обработано 212 гистологических образцов щитовидной железы крыс контрольной группы и опытных групп. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопирование полученных гистологических препаратов проводилось при помощи светооптического микроскопа «Микмед-5» при увеличении $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$. Фотографирование проводилось при помощи камеры Levenchuk C510 (5M pixels). Проведена оценка следующих морфометрических показателей щитовидной железы: средний диаметр фолликулов (мкм), высота фолликулярных тироцитов (мкм), средняя площадь тироцитов (мкм²), количество фолликулов в поле зрения. Рассчитывали индекс Брауна как отношение диаметра фолликулов к удвоенной высоте тироцитов. Данный показатель отражает уровень функциональной активности щитовидной железы [7].

Математико-статистическая обработка данных проведена с использованием лицензионного пакета прикладных программ «STATISTICA Trial» (Stat Soft Inc., США). Сравнительный анализ групп проводился с помощью непараметрических методов (критерий Манна — Уитни). Количественные данные в таблицах представлены в виде $Me [Q1; Q3]$, где Me — медиана, $Q1$ — нижний квартиль, $Q3$ — верхний квартиль. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение морфологических особенностей щитовидной железы контрольной группы животных показало, что орган имеет типичное строение, характерное для этих животных. Орган покрыт соединительнотканной капсулой. В паренхиме органа определяются фолликулы разного размера, содержащие коллоид, вырабатываемый фолликулярными клетками. По размерам можно дифференци-

ровать фолликулы средние и небольшое количество крупных фолликулов. Тироциты кубической формы имеют четкие контуры, их секреторная полярность направлена к просвету фолликулов. Ядра клеток округлой формы занимают эксцентричное положение, интенсивность окрашивания высокая. Коллоид вакуолизирован, имеет пенистую структуру.

Исследование щитовидной железы на 14-е сутки перорального ежедневного введения наночастиц диоксида титана показало следующие структурные изменения: фолликулы приобретают полигональную форму, отмечается увеличение их размеров, высота фолликулярных тироцитов уменьшается. Ядра тироцитов имеют шаровидную форму, интенсивность окрашивания ниже по сравнению с контрольной группой. Содержание коллоида в фолликулах центральной части щитовидной железы визуальнo уменьшается, как в центральной, так и в краевой зоне. Встречаются фолликулы, лишенные коллоида, просвет фолликулов не прокрашивается или структура коллоида становится зернистой. Тироциты в апикальной части имеют выросты разной формы.

На 28-е сутки перорального ежедневного введения наночастиц диоксида титана в щитовидной железе крыс отмечается преобладание фолликулов крупных размеров, они приобретают кистоподобные очертания. Высота фолликулярных тироцитов уменьшается. Форма ядер — шаровидная, встречаются тироциты, лишенные ядра. Количество фолликулов, лишенных коллоида, увеличивается. В срезе органа отмечаются фолликулы, целостность которых частично нарушена.

У крыс обеих опытных групп фолликулярный эпителий был неоднородный по внешнему виду, проявляя вариабельность высоты клеток и количества внутрифолликулярного коллоида.

Изучение морфометрических показателей выявило, что у крыс опытных групп при сравнении с контрольной группой отмечается увеличение среднего диаметра фолликулов примерно на 17%, при этом высота фолликулярных тироцитов (мкм) снижается по сравнению с контрольной группой на 27% ($p < 0,05$) на 14-е сутки эксперимента и на 35% ($p < 0,05$) на 28-е сутки введения наночастиц диоксида титана (табл. 1). Средняя площадь фолликулов в опытных группах увеличивается ($p < 0,05$), что согласуется с результатами исследований структурных особенностей железы, где было отмечено увеличение количества крупных фолликулов, что, в свою очередь, приводит к уменьшению общего числа фолликулов в поле зрения в органе экспериментальных групп. Расчет индекса Брауна, который является показателем функциональной активности щитовидной железы, показал, что на 14-е и 28-е сутки введения наночастиц диоксида титана происходит его увеличение (табл. 1).

Таблица 1

СРАВНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС КОНТРОЛЬНОЙ И ОПЫТНЫХ ГРУПП ME [Q1; Q3]

Параметры	Контроль	14 дней	28 дней
Средний диаметр фолликулов, мкм	53,28 (45,81;74,20)	65,13 (40,28; 83,33)	61,12 (46,35; 81,35)*
Высота фолликулярных тироцитов, мкм	16,8 (11,84; 18,56)	11,74 (9,18; 16,4)*	9,31 (6,63;15,38)*^

Окончание табл. 1

Параметры	Контроль	14 дней	28 дней
Средняя площадь фолликулов, мкм ²	222,6 (202,19; 272,44)	306,53 (215,81; 384,36)*	341,36 (205,26; 371,27)*^
Количество фолликулов в поле зрения	98,31 (89,44; 118,50)	77,28 (68,24; 91,26)*	76,20 (71,35; 91,89)*
Индекс Брауна, ед	1,51 (1,19; 1,85)	2,11 (1,86; 2,34)*	2,30 (1,62; 1,97)*

* — статистически значимые различия при $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой;

^ — статистически значимые различия при $p < 0,05$ при сравнении первой и второй опытной групп.

Полученные нами результаты исследования морфологических особенностей щитовидной железы крыс на фоне перорального введения наночастиц диоксида титана в дозе 10 мг/кг веса свидетельствуют об изменении функциональной активности щитовидной железы. Необходимо отметить, что по мере увеличения срока воздействия деструктивные изменения в структуре щитовидной железы усиливаются. Так, по мере увеличения срока воздействия наблюдается уменьшение толщины фолликулярного эпителия и его уплощение. На 28-й день эксперимента определяются разрывы фолликулов, что нарушает целостность и функционирование органа. Отмеченное нами преобладание кистоподобных фолликулов может свидетельствовать о возможном нарушении фолликулогенеза. В совокупности обнаруженные изменения указывают на гипofункцию щитовидной железы, вызванную воздействием НЧ TiO₂ [8, 9].

Результаты исследований последних лет показывают, что НЧ могут оказывать как положительное, так и негативное воздействие на эндокринную систему млекопитающих и других видов позвоночных животных [10]. Выделяют несколько возможных механизмов воздействия НЧ на эндокринную систему. Одним из таких механизмов является их способность имитировать гормоны. НЧ могут проникать в клетки и связываться с рецепторами гормонов, тем самым активируя или ингибируя сигнальные пути. Так, некоторые НЧ (Ag, ZnO), связываются с рецепторами эстрогена и оказывают эстрогенную активность, что может привести к дисбалансу гормонов в организме особо уязвимых групп — беременных женщин и детей. Другим механизмом действия является индукция окислительного стресса: НЧ могут генерировать АФК в клетках, что приводит к повреждению клеток и нарушению сигнальных путей [6].

Кроме того, НЧ нарушают функцию ферментов и транспортеров, участвующих в эндокринной регуляции. Например, было показано, что НЧ на основе углерода ингибируют активность ароматазы — фермента, играющего решающую роль в биосинтезе эстрогена, что может привести к снижению уровня эстрогена и эндокринной дисфункции. Lei L. и соавт. [11] обнаружили, что наночастицы TiO₂ усиливают эффект воздействия пентахлорфенолана на эндокринную функцию щитовидной железы у рыбок данио. В других работах [12] показано, что наночастицы TiO₂ увеличивают биоконцентрацию свинца, что приводит к нарушению синтеза гормонов щитовидной железы у личинок рыбок данио. Исследования

М. М. Hussein и соавт. [13] свидетельствуют, что наночастицы оксида цинка действуют на клетки Лейдига, снижая стероидогенез у мышей в условиях *in vivo*. В совокупности дисфункции эндокринной системы под влиянием НЧ имеют неблагоприятные последствия для здоровья, включая снижение репродуктивной функции и метаболический синдром.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты показали, что в щитовидной железе животных, которым перорально вводили нанодисперсный диоксид титана рутильной модификации в дозе 10 мг/кг веса, происходят морфологические изменения, свидетельствующие о гипофункции органа, что может в дальнейшем привести к нарушениям процессов роста, развития и нормального функционирования организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Luca M.* Nanotechnology in agriculture: new opportunities and perspectives. In: Özge Ç, ed. *New Visions in Plant Science*. IntechOpen; 2018. Ch. 7.
2. *Rogers J. A.* Wearable electronics: nanomesh on skin electronics. *Nat Nanotechnol.* 2017; 12(9):839–840.
3. *Шарафутдинова Л. А., Федорова А. М., Баикатов С. А., Синельников К. Н., Валуллин В. В.* Структурно-функциональная характеристика сперматогенного эпителия крыс в условиях воздействия наночастиц диоксида титана // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 166. № 8. С. 241–245.
4. *Skocaj M., Filipic M., Petkovic J., Novak S.* Titanium dioxide in our everyday life; is it safe? *Radiol Oncol.* 2011; 45:227–247. DOI: 10.2478/v10019-011-0037-0
5. *Mabrouk M., Das D. B., Salem Z. A., Beherei H. H.* Nanomaterials for biomedical applications: production, characterisations, recent trends and difficulties. *Molecules.* 2021; 26(4):1077.
6. *Xuan L., Ju Z., Skonieczna M., Zhou P.K., Huang R.* Nanoparticles-induced potential toxicity on human health: Applications, toxicity mechanisms, and evaluation models. *MedComm.* 2023; 4(4):e327. DOI: 10.1002/mco2.327
7. *Браун А. А.* О морфологическом индексе функциональной активности щитовидной железы // Тезисы научн. конф. Киргиз. мед. ин-та. Фрунзе, 1964. С. 20.
8. *Полякова Е. А., Сизова С. А., Мирошников В. С.* и др. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы при введении наночастиц меди // Морфология. 2015. Т. 148. № 6. С. 54–58.
9. *Смелова И. В., Головнева Е. С.* Изучение морфофункциональных изменений фолликулов щитовидной железы крыс в норме и при гипотиреозе после воздействия среднеинтенсивного лазерного излучения // Вестник РГМУ. 2018. № 3. С. 67–74. Doi: 10.24075/vrgmu.2018.028
10. *Lu X., Liu Y., Kong X., Lobie P. E., Chen C., Zhu T.* Nanotoxicity: a growing need for study in the endocrine system. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany).* 2013; 9(910):1654–1671.
11. *Lei L., Qiao K., Guo Y., Han J., Zhou B.* Titanium dioxide nanoparticles enhanced thyroid endocrine disruption of pentachlorophenol rather than neurobehavioral defects in zebrafish larvae. *Chemosphere.* 2020; 249:126536.

12. Miao W., Zhu B., Xiao X., et al. Effects of titanium dioxide nanoparticles on lead bio-concentration and toxicity on thyroid endocrine system and neuronal development in zebrafish larvae. *Aquat Toxicol.* 2015; 161:117–126.
13. Hussein M. M., Ali H. A., Saadeldin I. M., Ahmed M. M. Querectin alleviates zinc oxide nanoreprotoxicity in male Albino rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2016; 30(10):489–496.

УДК 616.419-089.843-07:616.428-091-092.9

¹Чарушина Ю. А., ¹Логинова Н. П., ²Заморина С. А., ²Раев М. Б.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ НА АЛЛОГЕННУЮ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ КЛЕТОК КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА И ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДОВ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО β 1-ГЛИКОПРОТЕИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*¹Пермский государственный медицинский университет
им. академика Е. А. Вагнера, Пермь, Российская Федерация*

*²Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН —
филиал Пермского федерального исследовательского центра
Уральского отделения РАН, Пермь, Российская Федерация*

Аннотация. Целью работы явилось изучение влияния коротких пептидных фрагментов ТБГ (трофобластический β 1-гликопротеин) на морфофункциональное состояние брыжеечных лимфатических узлов при аллогенной трансплантации клеток красного костного мозга в эксперименте.

Методика работы заключается в оценке толерогенного действия пептидов ТБГ в области введения аллогенных клеток (брыжеечные лимфоузлы).

Контингент испытуемых: белые крысы-самцы линии Wistar (n = 56), возраст от 2–3 месяцев. Использовали модель локальной аллотрансплантации.

Основные результаты работы показали, что введение коротких пептидных фрагментов ТБГ на фоне аллогенной трансплантации клеток костного мозга снижает воспаление в брыжеечных лимфатических узлах, стабилизирует микроокружение и поддерживает пролиферацию и дифференцировку клеток иммунной системы в направлении T reg популяции лимфоцитов. Динамика накопления транскрипционного фактора FOXP3 была медленной и проявилась только к концу эксперимента (35 суток). В результате пептиды трофобластического β 1-гликопротеина проявили свойства иммуномодулятора, что важно для формирования иммунной толерантности.

Ключевые слова: аллогенный трансплантат, красный костный мозг, белки беременности, брыжеечные лимфатические узлы, FOXP3, дендритные клетки, иммунная толерантность.