

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 (мкм<sup>2</sup>), 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 ( $\mu\text{m}$ ), height ( $\mu\text{m}$ ) and average area ( $\mu\text{m}^2$ ), 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  $\text{TiO}_2$ ) 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  $\text{TiO}_2$  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 рутильной 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  $\text{TiO}_2$  рутильной модификации, размер наночастиц 40–60 нм, с массовой долей вещества не менее 99,9% (ЗАО «Промхимпермь», Пермь). НЧ  $\text{TiO}_2$  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 ( $\text{мкм}^2$ ), 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 визуально 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 <sup>2</sup>	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 TiO<sub>2</sub> [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 TiO<sub>2</sub> усиливают эффект воздействия пентахлорфенолана на эндокринную функцию щитовидной железы у рыбок данио. В других работах [12] показано, что наночастицы TiO<sub>2</sub> 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

<sup>1</sup>Чарушина Ю. А., <sup>1</sup>Логонова Н. П., <sup>2</sup>Заморина С. А., <sup>2</sup>Раев М. Б.

## **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ НА АЛЛОГЕННУЮ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ КЛЕТОК КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА И ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДОВ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО $\beta$ 1-ГЛИКОПРОТЕИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

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

*<sup>2</sup>Институт 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  $\beta$ 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  $\beta$ 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.