

Морфофункціональні зміни гіпоталамо-адrenalової системи щурів під дією наночастинок срібла при ожирінні

А.С. Пустовалов¹, К.В. Ратушна¹, М.Г. Матвієнко¹, Г.Я. Гродзюк²,
Н.С. Андрюшина², М.Е. Дзержинський¹

¹ Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка;

² Інститут фізичної хімії ім. Л.В. Писаржевського НАН України, Київ;
e-mail: Matvienko.imdlab@gmail.com

Метою нашого дослідження було порівняння впливу солі срібла та наночастинок срібла на морфофункціональний стан гіпоталамо-адrenalової системи щурів з ожирінням. Дослід був проведений на 24 самцях щурів віком 6 міс. Щури контрольної групи отримували стандартне харчування. В інших групах тварин викликали ожиріння за допомогою дієти з високим вмістом жиру. Щури, в яких моделювалося ожиріння, були розділені на кілька груп, які отримували розчин NaCl, розчин солі срібла та розчин наночастинок срібла протягом 10 днів відповідно. Після закінчення дослідження у тварин відбирали гіпоталамічні ядра і надниркові залози, які готували за відповідними гістологічними методиками. У паравентрикулярному ядрі гіпоталамуса досліджували дрібноклітинну ділянку нейронів. У надниркових залозах щурів вивчали клітини трьох зон кори: клубочкової, пучкової та сітчастої. Результати дослідження показали, що ожиріння спричинило зростання функціональної активності в ядрах нейронів дрібноклітинної ділянки паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів. Функціональна активність максимально зростала в клітинах клубочкової зони кори надниркових залоз, пучковій зоні – помірно і в сітчастій зоні не було зафіксовано суттєвих змін. Розчин солі срібла спричинив зростання функціональної активності нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів з ожирінням. У клубочковій зоні вона суттєво збільшувалася, у пучковій – зменшилася здебільшого у ядрах клітин, у сітчастій – зросли переважно параметри ядер. Досліджено, що розчин наночастинок срібла спричинив інтенсифікацію клітин паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів з ожирінням. У клубочковій зоні кори надниркових залоз значно підвищилися показники клітин, у пучковій – зросли параметри цитоплазми, у сітчастій – зменшувалися переважно параметри ядер клітин. Загалом, введення розчину наночастинок срібла спричинило більш виражену, ніж сіль срібла, активацію клітин паравентрикулярного ядра гіпоталамуса та кори надниркових залоз у щурів з ожирінням. Ключові слова: щури; паравентрикулярне ядро гіпоталамуса; надниркові залози; наночастинок срібла; нітрат срібла; ожиріння.

ВСТУП

Ожиріння є однією з найактуальніших проблем сучасної медицини. Воно призводить до низки патологій, серед яких переважають цукровий діабет, серцево-судинні та онкологічні захворювання [1, 2]. Для профілактики зазначених захворювань та лікування їх ускладнень слід дотримуватися рекомендацій,

серед яких важливо підтримувати масу тіла на нормальному рівні та не допускати ожиріння.

У зв'язку з розповсюдженістю ожиріння сучасна медицина пропонує багато препаратів, проте їх ефекти переважно відрізняються неспецифічністю та нестійкістю. Нанотехнологічні методи являють собою перспективу в корекції ожиріння, оскільки

© А.С. Пустовалов, К.В. Ратушна, М.Г. Матвієнко, Г.Я. Гродзюк, Н.С. Андрюшина, М.Е. Дзержинський

можуть подолати перепони, пов'язані зі звичайними методами терапії. Можна виділити три основні стратегії боротьби з ожирінням на основі нанотехнологій, які діють на білу жирову тканину та її судинну систему. При цьому в білій жировій тканині пригнічується ангиогенез, вона трансформується в буру жирову тканину, та відбувається фототермічний ліполіз [3, 4]. На відміну від традиційних препаратів проти ожиріння, наносистеми краще переносяться пацієнтами, мають менше побічних ефектів. Їхній вплив в організмі людини відбувається за допомогою спеціальних наноносіїв, серед яких виділяють ліпосоми, полімерні та металеві наночастинки [5–7]. Незважаючи на те, що наночастинки активно використовуються в різних сферах, потенційна токсичність не дає змоги вільно використовувати їх у медицині, включаючи препарати проти ожиріння [8]. Оскільки ідея впровадження наночастинок у препарати для корекції ожиріння досить нова, наукових даних на цю тему небагато. Так, в одному дослідженні вивчали вплив наночастинок срібла на буру жирову тканину і виявили, що вони пригнічують адипогенні, мітохондріальні та термогенні генні програми бурих адипоцитів, тим самим інгібуючи їх здатність до диференціювання. Наночастинки підвищують вміст реактивних форм кисню. Однак негативні впливи наночастинок срібла на бурі адипоцити можуть коригуватися за допомогою антиоксидантів або інгібіторів реактивних форм кисню [9]. Використання наночастинок срібла в корекції ожиріння вважається досить перспективним [10].

Метою нашої роботи було дослідження впливу розчину нітрату срібла та наночастинок срібла на морфофункціональні показники клітин гіпоталамуса та надниркових залоз щурів з ожирінням.

МЕТОДИКА

Експеримент було проведено на 24 самцях білих нелінійних щурів *Rattus norvegicus*

віком 6 міс. Тварин утримували в стандартних умовах віварію за умов природного освітлення з вільним доступом до води та корму. Всі маніпуляції з тваринами були виконані відповідно до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в дослідних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986) [11].

Протягом 7 днів усі тварини отримували стандартне харчування для гризунів. На 8-й день їх розділили на групи: контрольну та дослідні з дієтіндукованими метаболічними порушеннями (модель аліментарного ожиріння) Протягом 10 тиж щури контрольної групи продовжували отримувати стандартне харчування (3,81 ккал/г), а щурів інших груп утримували на висококалорійній дієті (5,35 ккал/г), що складалася зі стандартного раціону (60%), сала (10%), яєць (10%), цукру (9%), арахісу (5%), сухого молока (5%) та рослинної олії (1%). Тварини мали необмежений доступ до їжі та води. Для підтвердження розвитку ожиріння їх зважували раз на тиждень до моменту досягнення середнього приросту маси тіла не менше ніж на 30% порівняно з контролем. Щури, в яких моделювали ожиріння, в свою чергу, були розділені на кілька груп відповідно до задач дослідження. Тваринам різних груп внутрішньоочередово вводили 0,9%-й ізотонічний розчин NaCl («Індар», Україна), розчин солі срібла, а також розчин наночастинок срібла протягом 10 днів (див. табл. 1).

Наночастинки срібла синтезували в Інституті фізичної хімії ім. Л.В. Писаржевського НАН України. Для одержання колоїдних розчинів наночастинок срібла готували окремо два розчини. Перший: додавали до 4,6 мл води при перемішуванні 0,2 мл 0,1 моль/л водного розчину AgNO_3 та 0,025 мл 0,1 моль/л водного розчину поліфосфату натрію – $(\text{NaPO}_3)_n$. Другий: змішували 5 мл води, 0,1 мл 1 моль/л водного розчину гідроксиду натрію (NaOH) та 0,1 мл 0,1 моль/л водного розчину аскорбінової

Таблиця 1. Характеристика експериментальних груп тварин

Назва групи	Режим харчування	Назва речовини	Доза
Контроль	Стандартний раціон	0,9%-й NaCl	0,5 мл/100 г
Висококалорійний раціон	Висококалорійний раціон	0,9%-й NaCl	0,5 мл/100 г
Висококалорійний раціон і нітрат срібла	Висококалорійний раціон	0,2 г/л розчину нітрату срібла	0,5 мл/100 г
Висококалорійний раціон і наночастинки срібла	Висококалорійний раціон	0,2 г/л розчину наночастинок срібла	0,5 мл/100 г

кислоти. Потім обидва розчини зливали при інтенсивному перемішуванні. При цьому утворювався колоїдний розчин срібла наночастинок з вмістом $[Ag_0] = 2 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Фізико-хімічні властивості отриманих суспензій (колоїдних розчинів) контролювали за допомогою растрової електронної мікроскопії (LMU Mira3 Tescan, «Tescan a.s.», Чехія) та енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії (Oxford X-MAX 80 мм², «Oxford Instruments», США). Наночастинки мали сферичну форму та розмір 8–12 нм. Приготовані розчини зберігали в темряві при кімнатній температурі.

На 10-й день експерименту через годину після останнього введення відповідних препаратів тварин декапітували і відбирали ділянки гіпоталамуса з паравентрикулярним ядром і надниркові залози. Матеріал фіксували в рідині Буена впродовж 72 год та заливали в парафін за загальноприйнятою методикою.

На санному мікротомі MC-2 («Медекспорт», Україна) виготовляли зрізи органів завтовшки 5-6 мкм та переносили їх на предметні скельця. Надниркові залози забарвлювали гематоксиліном Бемера та еозином, а гіпоталамус – за Ніслем.

З гістологічних препаратів робили знімки за допомогою мікроскопа Olympus BX51 (Японія) і системи аналізу зображень Olympus DP-Soft 3.2 (Японія). Потрібні морфометричні параметри вимірювали на цих фотознімках за допомогою програмного забезпечення для аналізу й обробки зображень Image J 1.42q

(National Institutes of Health, США) [12].

У ПВЯ гіпоталамуса досліджували дрібноклітинну ділянку. Нейрони цієї ділянки синтезують кортиколіберин, який, у свою чергу, активує синтез адренкортикотропного гормону (АКТГ) гіпофізом, модулюючи гіпоталамо-гіпофізарно-адrenalову систему [13]. У нейронів ПВЯ вимірювали площу поперечного перерізу ядер, яка є інформативним показником для оцінки функціонального стану клітин [14].

У надниркових залозах щурів досліджували 3 зони кори: клубочкову, пучкову та сітчасту. В кожній зоні синтезуються різні стероїдні гормони: в клубочковій зоні – мінералокортикоїди, у пучковій – глюкокортикоїди, у сітчастій – андрогени [15]. Вимірювали площу поперечного перерізу ядер та площу поперечного перерізу клітин (не менш як 100 вимірів на групу). Вищезазначені параметри є інформативними для оцінки функціональної активності клітин [16].

Отримані результати аналізували методами варіаційної статистики за допомогою програми Statistica 10.0 («StatSoft», США). Спочатку перевіряли розподіли вибірок показників на нормальність за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Результати тесту показали, що всі вибірки в порівнюваних групах розподілені за нормальним законом, тому для оцінки достовірності відмінностей між значеннями параметрів у групах використовували критерій t Стьюдента. Вірогідними вважали відмінності при $P < 0,05$.

Показники всіх груп тварин, які утримувалися на висококалорійній дієті, порівнювали з контрольною групою. Крім того, результати тварин, яким вводили наночастинки срібла, порівнювали з групою щурів, яким вводили сіль срібла. Результати представляли у вигляді середнього і стандартної похибки середнього ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ПВЯ розташоване у вентральному диенцефалоні, що примикає до третього шлуночка головного мозку. В ядрі виділяють 3 типи нейронів, які формують відповідні зони: дрібноклітинні (parvocellular neurons), крупноклітинні (magnocellular neurons), а також нейрони з довгими аксонами (long-projecting neurons) [17]. Нас зацікавили нейрони дрібноклітинної зони ПВЯ (рис. 1). ПВЯ гіпоталамуса щурів усіх експериментальних груп має однакову морфологію.

У щурів, яких утримували в умовах висококалорійної дієти, площа поперечного перерізу ядер нейронів ПВЯ достовірно перевищує значення контрольної групи (табл. 2). Таким чином, ожиріння спричинило

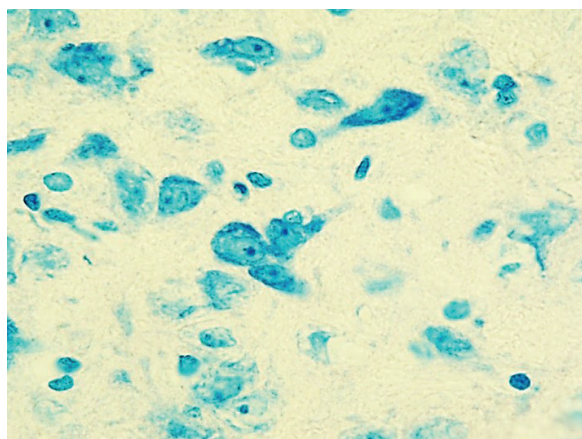


Рис. 1. Мікрофотографія зрізу паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щура контрольної групи. Забарвлення за Ніслем. Об. $\times 90$, ок. $\times 10$. Стан помірної функціональної активності

зростання функціональної активності в ядрах нейронів дрібноклітинної ділянки ПВЯ гіпоталамуса щурів. Тварини з ожирінням, яким вводили розчин нітрату срібла, мали вірогідно більшу площу поперечного перерізу ядер нейронів ПВЯ порівняно з контролем та меншу відносно групи з висококалорійним раціоном (табл. 2). Загалом введення солі срібла призвело до інактивації функції ядер нейронів ПВЯ щурів при ожирінні, але не відновлювало показники до контрольних рівнів.

Площа поперечного перерізу ядер нейронів ПВЯ щурів з ожирінням, яким вводили розчин наночастинок срібла, достовірно більша, ніж у контролі. При порівнянні з тваринами, які перебували на висококалорійному раціоні, вона достовірно знизувалася, а порівняно з групою щурів, які перебували на висококалорійному раціоні і отримували нітрат срібла – лише була тенденція до зменшення (див. табл. 2). Таким чином, введення наночастинок срібла спричинило найбільш виражену інактивацію ядер нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів з ожирінням, але не повернуло параметри до контрольних рівнів.

Загалом, у тварин при ожирінні змінювалася функціональна активність нейронів ПВЯ гіпоталамуса, що можна розцінювати як адаптаційну реакцію на стрес. Інші дослідники відмічають важливу роль ПВЯ в контролі стресу і метаболізму [18]. При введенні щурам з ожирінням розчинів нітрату срібла та наночастинок срібла розміри ядер нейронів зменшуються порівняно зі значеннями у щурів при ожирінні, але все одно не сягають контрольних рівнів. Це означає, що срібло як у формі солі, так і у формі наночастинок здатне зняти активацію клітин ПВЯ у відповідь на стрес, спричинений ожирінням. В іншому дослідженні наночастинки срібла також впливали на зменшення розмірів ядер нейронів, що свідчить про пригнічення функції гіпоталамуса [19].

Надниркові залози щурів усіх експериментальних груп мають подібну морфологію.

Таблиця 2. Зміни морфологічних показників клітин (мкм²) паравентрикулярного ядра гіпоталамуса та надниркових залоз щурів різних експериментальних груп

Параметр	Контроль	Висококало- рійний раціон	Висококало- рійний раціон і нітрат срібла	Висококалорійний раціон і наночастишки срібла
Площа поперечного перерізу ядер клітин				
Паравентрикулярне ядро гіпоталамуса	15,4 ± 0,5	24,0 ± 0,7*	20,3 ± 0,7* **	19,7 ± 0,5* **
Клубочкова зона кори надниркових залоз	22,9 ± 0,9	36,0 ± 1,3*	35,0 ± 1,1*	33,6 ± 1,3*
Пучкова зона кори надниркових залоз	30,5 ± 1,0	27,9 ± 1,1	27,7 ± 1,0*	27,2 ± 0,8*
Сітчаста зона кори наднирко- вих залоз	27,3 ± 0,9	25,1 ± 0,4*	26,0 ± 0,5**	27,8 ± 0,6** ***
Площа поперечного перерізу клітин				
Клубочкова зона кори надниркових залоз	98,4 ± 4,9	184,4 ± 11,3*	174,5 ± 13,3*	163,9 ± 18,6*
Пучкова зона кори надниркових залоз	120,8 ± 7,4	170,4 ± 9,6*	134,6 ± 10,6**	107,8 ± 5,5** ***
Сітчаста зона кори надниркових залоз	92,2 ± 3,8	91,9 ± 4,1	93,7 ± 5,1	99,2 ± 4,2

*порівняно з контрольною групою; ** порівняно з групою тварин, які перебували на висококалорійному раціоні; *** порівняно з групою тварин, які отримували нітрат срібла

Орган зовні оточений фіброзною капсулою з великою кількістю зрілих фібробластів. Надниркова залоза складається з мозкової та кіркової речовини. У межах кіркової речовини виділяють 3 зони: клубочкову, пучкову, сітчасту [15].

Клубочкова зона є поверхневим шаром, який складається з дрібних полігональних клітин, що формують клубочки (рис. 2, а). Наступна зона, пучкова – середній шар кіркової речовини, складений великими клітинами, які розміщені паралельними рядами. Клітини пучкової зони мають кубічну або призматичну форму та світлу або темну цитоплазму (див. рис. 2, б).

Сітчаста зона – найглибший шар кіркової речовини, клітини якого мають полігональну або округлу форми та формують розгалужені пучки. Клітини клубочкової зони містять дрібнозернисту рожеву цитоплазму та добре

розвинені фіолетові ядра, порівняно мало ядерець (див. рис. 2, в).

Слід відмітити, що в групі щурів з ожирінням площа поперечного перерізу ядер та клітин клубочкової зони достовірно має підвищення порівняно з контролем (див. табл. 2). Загалом, у щурів при ожирінні підвищується функціональна активність клітин клубочкової зони надниркових залоз. У пучковій зоні площа поперечного перерізу ядер клітин проявляла тенденцію до зменшення відносно контролю, але ці зміни недостовірні. Площа поперечного перерізу клітин достовірно перевищує контрольні значення. Так, у щурів з ожирінням ядра клітин у пучковій зоні мали істотне збільшення морфофункціональних параметрів цитоплазми, але не ядер. У клітин сітчастої зони вірогідно зменшувалася площа поперечного перерізу ядер відносно

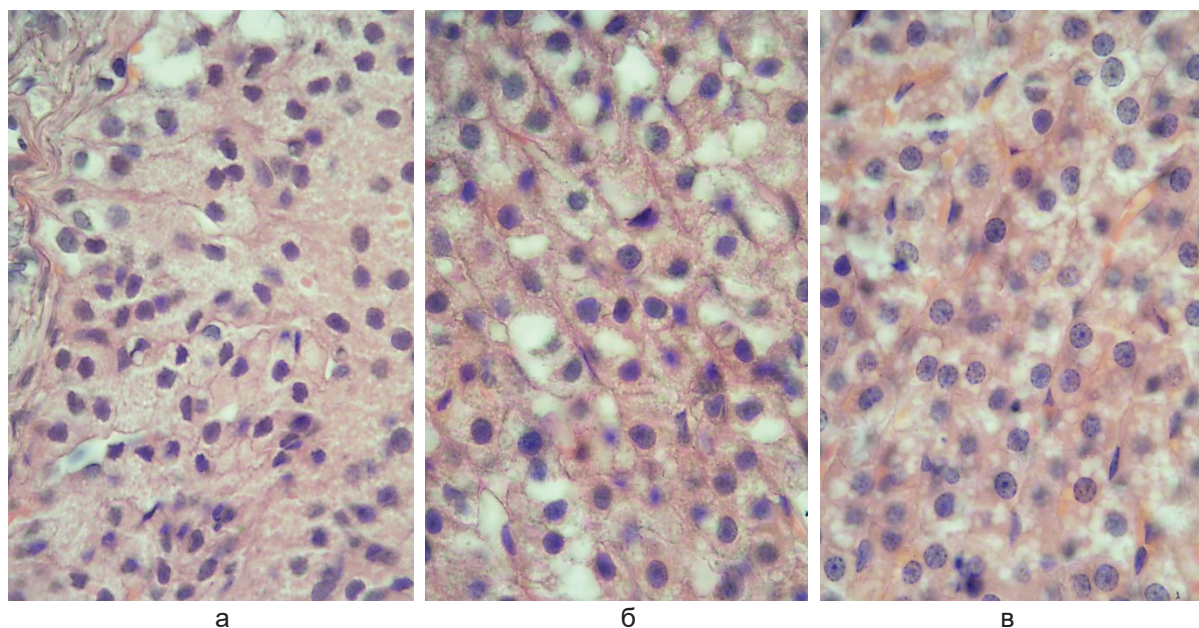


Рис. 2. Мікрофотографія зрізу надниркової залози щура. Забарвлення гематоксилином та еозином. Об. $\times 90$, ок. $\times 10$. а – клубочкова зона; стан помірної функціональної активності; б – пучкова зона; стан помірної функціональної активності; в – сітчаста зона; стан зниженої функціональної активності

контролю. Площа поперечного перерізу клітин становила $91,9 \pm 4,1 \text{ мкм}^2$, що достовірно не відрізнялося від контролю (див. табл. 2). Загалом, у сітчастій зоні кори спостерігалось зменшення морфофункціональних параметрів ядер клітин.

При введенні тваринам з ожирінням розчину нітрату срібла площа поперечного перерізу ядер клітин клубочкової зони надниркових залоз, а також клітин стала достовірно вищою, ніж у контролі (див. табл. 2). При порівнянні цих показників з групою тварин, які перебували на висококалорійному раціоні, достовірних змін не зафіксовано, але була тенденція до зменшення. У тварин з ожирінням, які отримували розчин нітрату срібла, незначно знижувалася функціональна активність клітин клубочкової зони надниркових залоз відносно тварин, які не отримували цього препарату. Водночас параметри клітин не повернулися до контрольних рівнів.

У тварин з ожирінням, які отримували розчин нітрату срібла, була достовірно

менша площа поперечного перерізу ядер клітин пучкової зони надниркових залоз, ніж у контролі. Відмінностей за цим показником при порівнянні зі значеннями у щурів, які перебували на висококалорійному раціоні, не відмічено. Площа поперечного перерізу клітин більша, ніж у контролі, але ці зміни недостовірні. Водночас вона нижча, ніж у групі висококалорійним раціоном (див. табл. 2). При введенні розчину нітрату срібла щурам з ожирінням ядра клітин пучкової зони надниркових залоз зменшуються, а параметри цитоплазми зростають відносно контролю і зменшуються відносно групи щурів, які не отримували препарати срібла в формі розчину солі.

У сітчастій зоні кори надниркових залоз тварин, які отримували розчин нітрату срібла, площа поперечного перерізу ядер клітин зменшувалася відносно контролю, але недостовірно, однак зростала щодо значень групи тварин, які перебували на висококалорійному раціоні. Площа поперечного перерізу клітин більша, ніж у конт-

ролі та у групі з висококалорійним раціоном, але ці зміни недостовірні (див. табл. 2). Введення солі срібла спричинило здебільшого зростання функціональної активності ядер клітин сітчастої зони надниркових залоз щурів з ожирінням та майже не позначилося на активації процесів у цитоплазмі. Причому параметри клітин більші, ніж у групі тварин з ожирінням, яким не вводили сіль срібла.

У тварин з ожирінням, які отримували розчин наночастинок срібла, в клубочковій зоні надниркових залоз площа поперечного перерізу ядер клітин достовірно вища, ніж у контрольній групі. При порівнянні з тваринами, які перебували на висококалорійному раціоні та висококалорійному раціоні з додаванням нітрату срібла достовірних змін не відмічено, хоча спостерігалася тенденція до зменшення. Площа поперечного перерізу клітин також достовірно перевищує контрольні показники. Але цей показник зменшується порівняно з групами висококалорійний раціон та висококалорійний раціон і солі срібла, хоча ці зміни недостовірні (див. табл. 2). Загалом, при введенні розчину наночастинок срібла щурам з ожирінням клітини клубочкової зони надниркових залоз мають збільшені морфофункціональні параметри відносно тварин контрольної групи, але вони менші відносно тих груп щурів, які не отримували препарати срібла. Причому зміни при введенні наночастинок срібла більш виражені, хоча і не повертаються до контрольних рівнів.

У пучковій зоні кори надниркових залоз тварин з ожирінням, яким вводили розчин наночастинок срібла, площа поперечного перерізу ядер клітин становить $27,2 \pm 0,8$ мкм², що менше, ніж у контролі. При порівнянні з групами висококалорійний раціон і висококалорійний раціон і сіль срібла не спостерігалася статистично достовірних змін. Площа поперечного перерізу клітин становить $107,8 \pm 5,5$ мкм². Цей показник достовірно менше, ніж у групах висококалорійний раціон та висококалорійний раціон і сіль срібла і відносно контролю він також змен-

шується, хоча і недостовірно. Але цікаво, що цей результат навіть нижчий за контрольні значення (див. табл. 2). В цілому, клітини пучкової зони кори надниркових залоз щурів з ожирінням, які отримували розчин наночастинок срібла, мали неоднакові зміни параметрів. Розмір ядер достовірно зменшився відносно контролю, як і в інших щурів при ожирінні в цій зоні кори надниркових залоз, але залишився без змін відносно інших груп. А розмір клітин не тільки зменшився порівняно з іншими групами, але і переважив контрольні значення.

Клітини сітчастої зони кори надниркових залоз щурів з ожирінням, яким вводили розчин наночастинок срібла, мають площу поперечного перерізу ядер $27,8 \pm 0,6$ мкм². Цей показник залишився без змін відносно контролю та достовірно зріс порівняно з групами, які перебували на висококалорійному раціоні і висококалорійному раціоні з введенням солі срібла. Площа поперечного перерізу клітин становила $99,2 \pm 4,2$ мкм². Цей параметр зростає при порівнянні з іншими групами, але ці зміни недостовірні (див. табл. 2). Загалом, при введенні щурам з ожирінням розчину наночастинок срібла спостерігається виражене зростання переважно показників ядер клітин і меншою мірою – цитоплазми в сітчастій зоні кори надниркових залоз.

Важливо, що в кожній зоні надниркових залоз у тварин усіх експериментальних груп клітини зберігають нормальну морфологію та не мають жодних патологічних змін. В інших дослідженнях також підтверджується відсутність порушень у морфології клітин надниркових залоз щурів при введенні наночастинок металів, зокрема, срібла [20] та магнетиту [21]. Але не завжди наночастинок металів нейтрально впливають на тканини. Зокрема, у деяких дослідженнях було показано, що наночастинок оксиду марганцю навіть у невисоких концентраціях викликають морфофункціональні порушення в центральній нервовій системі, дихальних шляхах, серці, надниркових залозах тощо [22–25].

У цілому, у тварин на фоні висококалорійної дієти розвинулося ожиріння, яке позначилося на морфофункціональних показниках клітин ПВЯ гіпоталамуса і кори надниркових залоз. При цьому у нейронів ПВЯ та клітин клубочкової зони надниркових залоз показники збільшилися, а в інших зонах кори надниркових залоз зміни не завжди були односпрямованими. Так, у пучковій зоні зросли лише параметри клітини, а в сітчастій зоні зменшилися – ядер. Варто зазначити, що зазначені зміни спостерігаються у всіх групах тварин з ожирінням. Але при введенні препаратів срібла показники клітин змінюються, на основі чого можна судити про коригуючий вплив розчину солі срібла та розчину наночастинок срібла.

При введенні шурам з ожирінням розчину солі срібла параметри клітин ПВЯ гіпоталамуса і клубочкової зони кори надниркових залоз зменшилися відносно тварин, які не отримували препарати срібла, але показники не повернулися до контрольного рівня. У пучковій зоні параметри зменшилися, а розміри ядер стали менші навіть за контрольний рівень. У сітчастій зоні клітини відреагували протилежним чином: їхні показники зросли, особливо ядра.

Ефекти розчину наночастинок срібла порівнювалися з усіма експериментальними групами. У ПВЯ гіпоталамуса і клубочковій зоні кори надниркових залоз параметри клітин зменшилися відносно інших груп тварин з ожирінням, хоча і не досягли контрольного рівня. У пучковій зоні показники ядер клітин зменшилися, навіть перевершивши контрольні значення. А показники цитоплазми клітин також зменшилися до рівня нижче від контрольного та знизилися відносно інших груп шурів з ожирінням. Клітини сітчастої зони проявили зростання досліджуваних показників відносно інших груп тварин, причому ядра більш виражено відреагували на введення наночастинок срібла.

Ожиріння та препарати срібла чинять односпрямований вплив на морфометричні

показники клітин ПВЯ та кори надниркових залоз, при цьому ефект наночастинок срібла більш виражений. Варто зауважити, що різні зони кори надниркових залоз неоднаково реагують як на ожиріння, так і на препарати срібла, що пов'язано з різною функціональною роллю цих зон. Так, клубочкова зона виробляє альдостерон, пучкова зона – кортикостерон, а сітчаста зона – андрогени, подібні до статевих гормонів [26].

Клітини ПВЯ гіпоталамуса та клубочкової зони надниркових залоз демонструють зменшення параметрів відносно груп тварин, які не отримували препарати срібла, причому ефекти наночастинок срібла більш виражені, хоча і не досягають контролю. В пучковій зоні параметри клітин також суттєво знижуються, навіть переважають контрольні значення. Але в сітчастій зоні показники клітин, навпаки, зростають відносно тих груп тварин, яким не вводили препарати срібла. У такому разі ефект наночастинок срібла проявляється більш виражено.

Вплив наночастинок срібла на надниркові залози вивчений недостатньо. Проте наші результати можна порівняти з даними дослідження впливу на надниркові залози шурів хімічно інертних наночастинок магнетиту розміром 22 нм. У досліді проводили магніто-термічну стимуляцію без трансгенів для точного дистанційного контролю секреції гормонів наднирковими залозами. Дані засвідчили, що наночастинок магнетиту зберігалися в тканині до 6 міс і викликали хронічну стимуляцію надниркових залоз протягом днів і тижнів без видимого пошкодження цілісності тканини або функції клітин [21]. Наночастинок магнетиту сприяли активації клітин надниркових залоз, в той час як ми спостерігали таку реакцію лише в сітчастій зоні. Подібна різниця в ефектах на клітини кори надниркових залоз може бути зумовлена відмінностями матеріалу, розміру та інших характеристик наночастинок, які відрізняються в цих дослідженнях.

ВИСНОВКИ

1. Щури, які утримувалися в умовах висококалорійного раціону, мали підвищені показники функціональної активності клітин паравентрикулярного ядра гіпоталамуса.

2. Введення розчину нітрату срібла спричинило зростання функціональної активності нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів з ожирінням.

3. Щури з ожирінням, яким вводили розчин наночастинок срібла, проявили зростання морфофункціональних показників нейронів ПВЯ гіпоталамуса, яке суттєво переважало ефекти впливу розчину солі срібла.

4. Висококалорійний раціон спричинив неоднакові зміни в кірковій речовині надниркових залоз щурів. Клітини клубочкової зони кори надниркових залоз проявили найбільш виражене зростання функціональної активності, у пучковій зоні спостерігалось зростання функціональних процесів у ядрах клітин, а в сітчастій зоні не було зафіксовано суттєвих змін.

5. Клітини кори надниркових залоз щурів з ожирінням по-різному відреагували на введення розчину наночастинок срібла. У клубочковій зоні суттєво зросли параметри функціональної активності клітин, у пучковій – зменшилися переважно параметри ядер клітин, у сітчастій – зросли здебільшого параметри ядра.

6. Тварини з ожирінням, яким вводили розчин наночастинок срібла, мали неоднакові зміни в морфофункціональних показниках клітин кори надниркових залоз. У клубочковій зоні істотно зростали параметри, у пучковій – значно зросли показники цитоплазми, у сітчастій – зменшилися переважно параметри ядер клітин.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

A.S. Pustovalov¹, K.V. Ratushna¹,
M.G. Matvienko¹, G.Ya. Grodzyuk²,
N.S. Andryushina², M.E. Dzerzhynsky¹

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF THE RAT HYPOTHALAMO-ADRENAL SYSTEM UNDER THE INFLUENCE OF SILVER NANOPARTICLES IN OBESITY

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, Educational and Scientific Centre "Institute of Biology and Medicine";

²L. V. Pisarzhevskii Institute of Physical Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine;
e-mail: Matvienko.imdlab@gmail.com

The aim of this study was to compare the effect of silver salt and silver nanoparticles on the morphofunctional state of the hypothalamic-adrenal system in obese rats. The experiment was carried out on 24 male rats at the age of 6 months. The rats of the control group received standard food. In other groups of animals, obesity was induced using a diet-induced model of metabolic disorders. The rats, modeled for obesity, were divided into several groups. Animals of different groups received NaCl solution, silver nitrate solution and silver nanoparticle solution for 10 days, respectively. After the end of the experiment, the hypothalamic nuclei and adrenal glands, prepared according to the appropriate histological methods, were taken from the animals. In the paraventricular nucleus of the hypothalamus, a small-cell area of neurons was examined. In the adrenal glands of rats, cells of three zones of the cortex were examined: glomerular, fascicular, and reticular. The results of the study showed that obesity led to the increase of functional activity in the nuclei of neurons in the small-cell region of the PVN of the rat hypothalamus. The cells of the glomerular zone of the adrenal cortex had the maximum increase in functional activity, the fascicular zone – a moderate increase in functional activity, and no significant changes were recorded in the reticular zone. It was shown that the silver salt solution caused the increase in the functional activity of PVN neurons in the hypothalamus of obese rats. In the glomerular zone, the parameters of the functional activity of cells increased significantly, in the fascicular zone, the parameters of cell nuclei decreased to the greater extent, in the reticular zone, mainly the parameters of the nuclei increased. It was investigated that the solution of silver nanoparticles caused the intensification of PVN cells in the hypothalamus of obese rats. In the glomerular zone of the adrenal cortex, a significant increase in cell parameters was observed, in the fascicular zone – the increase in the cytoplasm parameters, in the reticular zone – the decrease mainly in the parameters of cell nuclei. In general, the administration of the solution of silver nanoparticles led to more pronounced activation of PVN cells of the hypothalamus and adrenal cortex in obese rats than the silver salt.

Key words: rat; paraventricular hypothalamic nucleus; adrenal gland; silver nanoparticles; silver salt; obesity.

REFERENCES

1. Apovian CM, Riffenburt KM. Perspectives on the global obesity epidemic. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2017;24(5):307-9.
2. Leitner DR, Fruhbeck G, Yumuk V et al. Obesity and type 2 diabetes: two diseases with a need for combined treatment strategies—can lead the way. *Obes Facts.* 2017;10(5):483-92.
3. Kwok KHM, Lam KSL, Xu A. Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications. *Exp Mol Med.* 2016;48(3):215.
4. Vargas-Castillo A, Fuentes-Romero R, Rodriguez-Lopez LA, et al. Understanding the biology of thermogenic fat: is browning a new approach to the treatment of obesity? *Arch Med Res.* 2017;48(5):401-13.
5. Ali MRK, Rahman MA, Wu Y, et al. Efficacy, long-term toxicity, and mechanistic studies of gold nanorods photothermal therapy of cancer in xenograft mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2017;114(15):3110-8.
6. Sibuyi NRS, Moabelo KL, Meyer M, et al. Nanotechnology advances towards development of targeted-treatment for obesity. *J Nanobiotechnol.* 2019;17(122):1-21.
7. Pattani VP, Shah J, Atalis A, et al. Role of apoptosis and necrosis in cell death induced by nanoparticle-mediated photothermal therapy. *J Nanoparticle Res.* 2015;17(1):20.
8. Kalynovskyi VY, Pustovalov AS, Grodzjuk GY, et al. Effects of gold and silver nanoparticles on kisspeptin-mediated regulation of the hypothalamo-pituitary-gonadal axis. *Neurophysiology.* 2017;49:194-9.
9. Yue L, Zhao W, Wang D, et al. Silver nanoparticles inhibit beige fat function and promote adiposity. *Mol Metab.* 2019;19:1-11.
10. Zhang Y, Yu J, Qiang L, et al. Nanomedicine for obesity treatment. *Sci. China Life Sci.* 2018;61:373-9.
11. Gonciarov M, Coman C. General principles concerning the harmonization of Romanian legislation with the European union in the field of protection of animals used for scientific scope. *Agriculture Agricultural Sci Procedia.* 2015;6:336-41.
12. Collins TJ. Image J for microscopy. *BioTechniques.* 2007;43(1):25-30.
13. Jiang Z, Rajamanickam S, Justice NJ. Local corticotropin-releasing factor signaling in the hypothalamic paraventricular nucleus. *J Neurosci.* 2018;38(8):1874-90.
14. Hancheva OV, Danukalo MV, Melnikova OV. Morphometric and densitometric of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Pathology.* 2019;16(45):4-8.
15. Nicolaides NC, Chrousos GP. Hormonal signaling in biology and medicine. *Comprehensive modern endocrinology.* Acad Press. 2020:619-33.
16. Pustovalov AS, Matviienko MG, Dzerzynsky ME. The pineal gland and immunization in bird reproduction. *Hystophysiological analysis.* Mauritius: LAP Lambert Acad Publ. 2020:47-8. [Russian].
17. Cheng Q, Jiaheng L, Ke T. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: development, function, and human diseases. *Endocrinology.* 2018;159(9):3458-72.
18. Ferguson AV, Latchford KJ, Samson WK. The paraventricular nucleus of the hypothalamus a potential target for integrative treatment of autonomic dysfunction. *Expert Opin Ther Target.* 2008;12(6):717-27.
19. Kalynovskyi VY, Pustovalov AS, Grodzjuk GY. Effects of systemic introductions of nanoparticles and salts of gold and silver on the size of the nuclei of hypothalamic neurons in male rats. *Neurophysiology.* 2016;48:259-63.
20. Nefodov A, Nefodova E, Chatornaya V. Features impact nanosilver colloidal solution on the morphological and biochemical parameters in rats. *Mod Sci.* 2017;3:140-7.
21. Rosenfeld D, Senko AW, Moon J, et al. Transgene-free remote magnetothermal regulation of adrenal hormones. *Sci Adv.* 2020;6(15), eaaz3734.
22. Elder A, Gelein R, Silva V. Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. *Environ Health Perspect.* 2006;114:1172-8.
23. Sarkozi L, Horvath E, Konya Z, Kiricsi I. Subacute intratracheal exposure of rats to manganese nanoparticles: behavioral, electrophysiological, and general toxicological effects. *US NLM.* 2009.
24. Horvath E, Mate Z, Takacs S, Pusztai P. General and electrophysiological toxic effects of manganese in rats following subacute administration in dissolved and nanoparticle form. *Sci World J.* 2012;2012:520632.
25. Zaitseva NV, Zemlyanova MA, Akafiev TI. Negative effects of manganese oxide nanoparticles when inhaled into the body. *Human Ecol.* 2013;11:25-29. [Russian].
26. Mitani F. Functional zonation of the rat adrenal cortex: the development and maintenance. *Proc Jap Acad, Ser B, Phys Biol Sci.* 2014;90(5):163-83.

Матеріал надійшов до редакції 23.11.2021