

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ДМГ-ІНДУКОВАНОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ТА КОРИГУВАЛЬНОГО ВПЛИВУ КОМПОЗИЦІЇ НАНОЧАСТИНОК Au/Ag/Fe

І.М. Іванчук, З.М. Небесна

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, Україна

Ключові слова: кора великих півкуль, нейроцити, морфологічні зміни, ДМГ, наночастинки Au/Ag/Fe.

Буковинський медичний вісник. 2023. Т. 27, № 3 (107). С. 75-79.

DOI: 10.24061/2413-0737.27.3.107.2023.13

E-mail: shepet.ira.97@gmail.com

Резюме. У даній статті досліджується коригувальний вплив композиції наночастинок Au/Ag/Fe на морфологію кори головного мозку за умов ДМГ-індукованої аденокарциноми *in situ*.

Мета дослідження – вивчити можливості використання композиції наночастинок металів для корекції морфологічних порушень кори головного мозку за умов ДМГ-індукованого неопластичного ураження товстої кишки.

Матеріал і методи. У дослідженні використано 105 статевозрілих безпородних білих щурів-самців. Усіх тварин було розподілено на три групи: I – 35 інтактних тварини, II – 70 тварин із ДМГ-індукованою аденокарциномою товстої кишки, III – 20 тварин, яким після закінчення моделювання неопластичного ураження товстої кишки щоденно вводили композицію НЧ Au/Ag/Fe. Експериментально індукований канцерогенез моделювали шляхом уведення N,N-диметилгідрозину гідрохлориду 1 раз на тиждень протягом 30 тижнів. Тваринам III групи із ДМГ-індукованим канцерогенезом вводили водну дисперсію НЧ Au/Ag/Fe внутрішньошлунково 1 раз на добу впродовж 21 доби. Гістологічні препарати виготовляли згідно із загальноприйнятими методиками. Для вивчення та фотодокументування препаратів використовували світловий мікроскоп MICROmed SEO SCAN та відеокамеру Vision CCD Camera.

Результати. Застосування наночастинок Au/Ag/Fe призвело до регенерації структурних елементів кори головного мозку порівняно з групою тварин із ДМГ-індукованим канцерогенезом. Коригувальний вплив композиції наночастинок характеризувався відновленням структурних елементів кори великих півкуль, зменшенням альтеративних змін у нейроцитах та регенерацією пошкоджених кровоносних капілярів органа.

Висновки. Отримані результати вказують на ефективність наночастинок Au/Ag/Fe у зменшенні наслідків розвитку та прогресування ДМГ-індукованої аденокарциноми *in situ* на кору головного мозку.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE CEREBRAL CORTEX UNDER CONDITIONS OF DMH-INDUCED COLON ADENOCARCINOMA AND THE CORRECTIVE EFFECT OF THE Au/Ag/Fe NANOPARTICLE COMPOSITION

І.М. Ivanchuk, Z.M. Nebesna

Key words: cerebral cortex, neurocytes, morphological changes, DMH, Au/Ag/Fe nanoparticles.

Bukovinian Medical Herald.

2023. V. 27, № 3 (107). P. 75-79.

Resume. This article investigates the corrective influence of the composition of Au/Ag/Fe nanoparticles on the morphology in the cerebral cortex under the conditions of DMH-induced adenocarcinoma *in situ*.

Objective of the study was to explore the potential use of metal nanoparticle composition to correct morphological disturbances in the cerebral cortex under the conditions of DMH-induced neoplastic lesions of the colon.

Material and methods. The study involved 105 sexually mature male white rats. All animals were divided into three groups: group I - 35 intact animals, group II - 70 animals with DMH-induced adenocarcinoma, group III - 20 animals with a simulated adenocarcinoma of the colon to which the Au/Ag/Fe nanoparticle composition was administered. Experimental carcinogenesis was induced by weekly administration of N,N-dimethylhydrazine hydrochloride over 30 weeks. Animals with DMH-induced carcinogenesis were treated with an intragastric administration of an aqueous dispersion of Au/Ag/Fe nanoparticles once a day for

Оригінальні дослідження

21 days. Histological specimens were prepared following widely accepted methods. A MICROMed SEO SCAN light microscope and a Vision CCD Camera were used for studying and photodocumenting the specimens.

Results. The application of Au/Ag/Fe nanoparticles led to the regeneration of structural elements in the cerebral cortex compared to the group of animals with DMG-induced carcinogenesis. The corrective effect of the nanoparticle composition was characterized by the restoration of structural elements in the cerebral hemispheres, a reduction in pathological changes in neurons, and the regeneration of damaged blood vessels in the organ.

Conclusions. The obtained results indicate the effectiveness of Au/Ag/Fe nanoparticles in reducing the consequences of the development and progression of DMG-induced adenocarcinoma *in situ* in the cerebral cortex.

Вступ. Розвиток будь-якого неопластичного ураження постійно супроводжується порушенням процесів окисно-відновного стану. Збільшення рівнів речовин-маркерів, порушення окисно-відновної рівноваги різноманітними способами впливають на організм, уражений канцерогенезом: ініціюють або ж стимулюють пухлиноподібний процес, підтримують проліферацію ракових клітин, спричиняють загибель здорових клітин [1]. Завдяки підвищеному обміну речовин, багатій ліпідній структурі та обмеженому антиоксидантному захисту, мозок має підвищену чутливість до оксидативного стресу (ОС) [2]. Вчені вже довели критичну роль прогресування ОС у різних нейродегенеративних захворюваннях [3, 4]. Центральна нервова система має порівняно слабшу систему антиоксидантного захисту з іншими органами. Порушення рівноваги між утворенням активних форм кисню та антиоксидантним захистом призводить до високої чутливості мозкових тканин до окиснювального стресу. Попередньо ми дослідили, що ДМГ-індукований канцерогенез супроводжується значними змінами в нейронах кори головного мозку. Характерною була виражена деструкція нейронів, а також порушення мікроциркуляції, що можна вважати ознакою токсичної енцефалопатії. Встановлено, що ступінь ураження нейронів і компонентів мікроциркуляторного русла кори великих півкуль в експериментальних тварин є ступінчастим і залежить від періоду перебігу канцерогену [5].

Незважаючи на те, що традиційні методи лікування, такі, як хіміотерапія, променева терапія, хірургія та інші, безумовно важливі та базові, дослідники постійно працюють над розробкою нових підходів та засобів, які можуть підвищити рівень виживання та якість життя пацієнтів, зменшити побічні ефекти [6].

Наночастинки (НЧ) продемонстрували багатообіцяючий потенціал у галузі лікування раку [7]. Наночастинки мають багатофункціональні властивості. Науково доведено, що НЧ металів демонструють антимікробні, протигрибкові, противірусні, каталітичні, антиоксидантні та інші властивості [8]. Зараз активно вивчаються фізико-хімічні, біологічні та фізіологічні аспекти впливу наночастинок на різноманітні ланки патогенезу захворювання. Враховуючи переконаліві позитивні результати застосування окремих класів металевих наночастинок, ми вирішили зосередити увагу на вивченні механізмів впливу їх комбінації на

регенеративний потенціал пошкоджених систем та органів організму, зокрема центрального регуляторного органа – кори великих півкуль. У наших попередніх дослідженнях ми встановили виражений позитивний ефект використання композиції Au/Ag/Fe НЧ на гематологічні показники в умовах ДМГ-індукованого канцерогенезу [9]. Беручи до уваги раніше вивчену біобезпеку складу золота, срібла та заліза, вкрай необхідне подальше посилення наукових досліджень цього складу наночастинок, оскільки в майбутньому він може бути використаний у протоколах лікування неметастатичних форм раку товстої кишки.

Мета дослідження – оцінити ефективність застосування композиції наночастинок Au/Ag/Fe для корекції морфологічних порушень кори головного мозку за умов ДМГ-індукованої аденокарциноми товстої кишки.

Матеріал і методи

Експериментальні тварини

До експерименту залучено 105 статевозрілих безпородних білих самців щурів. Утримання тварин, проведення усіх маніпуляцій та виведення їх із експерименту здійснювались згідно з вимогами "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [10] та погоджені Біоетичним комітетом Тернопільського національного медичного університету (м.Тернопіль, Україна).

Тварин розподілили на такі групи: I група - інтактна (35 тварин); II група - тварини з ДМГ-індукованою аденокарциномою товстої кишки *in situ* (70 тварин); III група - 20 тварин із модельованою аденокарциномою товстої кишки, яким із метою корекції застосовували композицію наночастинок Au/Ag/Fe.

Після завершення експериментального періоду у всіх щурів, які отримували ДМГ, гістологічно підтверджено розвиток аденокарциноми товстої кишки *in situ*.

Модельовання колоректального раку

Для створення моделі колоректального раку використано N,N- диметилгідразин дигідрохлорид від Sigma-Aldrich Sp. z o.o., Польща (серія D161608). Цей хімічний канцероген був розчинений в ізотонічному розчині хлориду натрію у співвідношенні 1:100. Уведення виконувалося п/ш у міжлопаткову ділянку з дозою 7,2 мг на кілограм маси тіла один раз на тиждень, упродовж 30 тижнів. Для тварин контрольної групи проведені аналогічні п/ш ін'єкції фізіологічного розчину

об'ємом 0,1 мл з вказаною вище частотою. Це зроблено з метою імітації можливих ефектів стресу [11].

Морфологічні дослідження

Для дослідження мікроскопічної організації кори великих півкуль заібраний матеріал обробляли та заливали в парафінові блоки відповідно до загальноприйнятих методик. Зрізи товщиною 4-5 мікрметри отримували з використанням роторного мікротома AMR-400. Гістологічні препарати забарвлювались гематоксиліном та еозином, а також за методом Ніссля [12]. Для гістологічного аналізу препаратів використовувався світловий мікроскоп MICROmed SEO SCAN. З метою фотодокументування досліджених матеріалів використовувалась відеокамера Vision CCD Camera.

Алгоритм застосування композиції наночастинок металів

Композиція НЧ Au/Ag/Fe, яку використовували в цьому дослідженні, отримана механічним змішуванням водних дисперсій НЧ срібла, золота та заліза. Використані наночастинок мали такі розміри: Au – 30 нм, Ag – 30 нм, Fe – 40 нм. Концентрація металів в 1 мл водного розчину: Au – 3,1 мкг, Ag – 1,6 мг, Fe – 0,1 мг. Вихідний водний розчин НЧ перед використанням розбавляли дистильованою водою у співвідношенні 1:10.

Упродовж 21 доби експериментальним тваринам вводили водну дисперсію НЧ Au/Ag/Fe у дозі 0,842 мг, Ag / 0,0526 мг, Fe / 1,625 мкг, Au на 1 кг маси тварини, внутрішньошлунково 1 раз на добу.

Результати дослідження та їх обговорення. Кора півкуль великого мозку тварин контрольної групи мала типову структуру і видових особливостей. Морфологічна організація кори півкуль головного мозку характеризувалась наявністю виражених деструктивних змін у нейронах після 30 тижнів моделювання ДМГ-індукованої аденокарциноми *in situ*. Найбільш виражені альтеративні зміни прослідковувались у пірамідному та гангліонарному шарах. Поліморфність клітин тканини головного мозку проявлялась у збільшенні наявності гіпохромних, різко гіпохромних, гіперхромних та різко гіперхромних нейронів (рис. 1).

Гіпохромні та різко гіпохромні нервові клітини характеризувались прогресуванням процесів тигролізу, який у деяких нейронів був тотальним. У свою чергу, це зумовило просвітлення нейроплазми. Характерні відмінності таких нейронів: перикаріон нечіткої форми з потовщеними, набряклими та нечіткими відростками, світла каріоплазма з базофільними ядерцями невеликих розмірів (рис. 1). Важлива особливість цих клітин - виражене зменшення включень субстанції Ніссля, що є основною ознакою виснаження нейронів.

Гіперхромні та різко гіперхромні (пікноморфні) нейрони переважали у корі головного мозку тварин із ДМГ-індукованим канцерогенезом. Для цих клітин було характерним зменшення за розміром сома з інтенсивно забарвленою цитоплазмою; невеликі ядра з інвазіями каріолеми; відростки значно витончені, хвилеподібні (рис 2). Такі нейрони мають сповільнену функціональну активність, а також можуть відновлювати своє функціонування за сприятливих факторів. Цей факт

підкреслює важливість вибору ефективних методів корекції патологічного впливу на клітини центральної нервової системи.

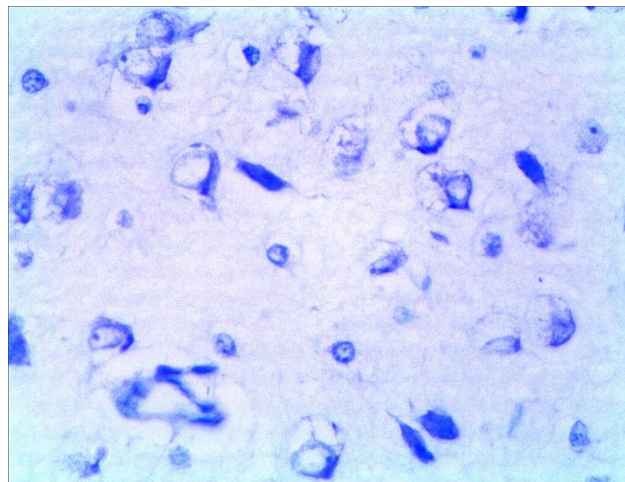
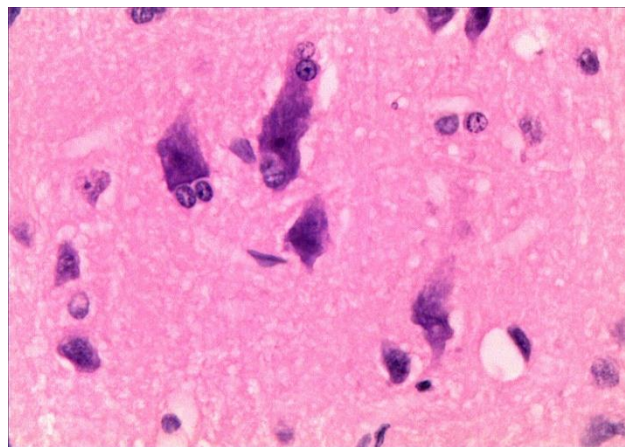


Рис. 1. Гістологічні зміни кори півкуль великого мозку тварини на 7-й місяць експериментального канцерогенезу. Гіперхромні, гіпохромні, різко гіпер- та різко гіпохромні нейрони з вираженим перинуклеарним набряком. Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 400



*Рис. 2. Гіперхромні та різко гіперхромні нейрони кори головного мозку за умов ДМГ-індукованої аденокарциноми товстої кишки *in situ*. Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 400*

Для 7-го етапу експериментального канцерогенезу характерним було значне ураження гемокапілярів кори головного мозку уражених тварин, яке носило гетерогенний характер. Більшість судин мали значно звужені просвіти за рахунок підвищеної проникності стінки судин та вираженого периваскулярного набряку, у просвітах траплялись поодинокі клітини крові. У невеликій кількості мікросудин переважали явища стазу (рис 3). Стінка змінених капілярів була утворена деструктуризованими ендотеліальними клітинами, розміщеними на нечітко контурованій базальній мембрані.

Усі вищеописані структурні зміни нейронів, модифікації нейронних відростків, виражені порушення

Оригінальні дослідження

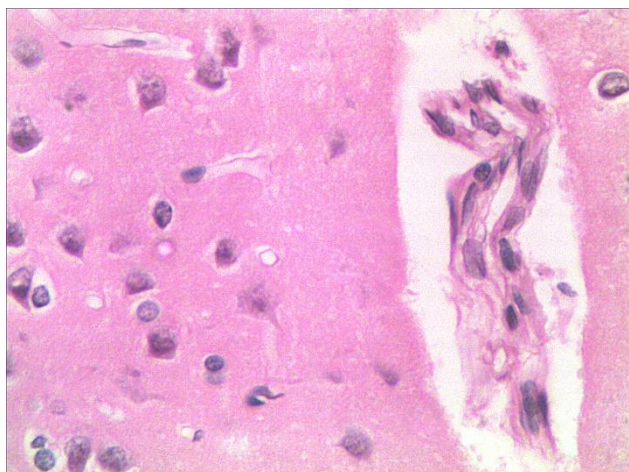


Рис. 3. Гістологічні зміни гемокapіляра кори півкуль великого мозку тварини при експериментальному канцерогенезі. Звужений, деформований просвіт судин, значний периваскулярний набряк. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 400

мікроциркуляторного русла, у вигляді стазів, сладжів та периваскулярного набряку, супроводжуються значними порушеннями механізмів міжнейронної взаємодії.

Досліджено композицію НЧ Au/Ag/Fe на предмет її потенційного позитивного впливу на морфологічну організацію кори великих півкуль. Металеві наночастинки зберігають унікальні властивості, що робить їх перспективними для використання в різних сферах, включаючи можливість коригування порушень, пов'язаних із розвитком і прогресією канцерогенезу [13]. Нами встановлено, що застосування цього методу корекції призвело до значного зменшення деструктивних проявів ураження компонентів кори головного мозку порівняно з другою групою тварин, яким моделювали канцерогенез.

Виявлено помітне зменшення деструктивних змін нейронів усіх шарів кори головного мозку тварин із ДМГ-індукованою аденокарциномою товстої кишки. Застосування композиції нанометалів призвело до зменшення кількості різко гіпо-, різко гіперхромних нейронів та до зменшення проявів тигролізу в клітинах. Також відзначено помірну кількість гіпо- та гіперхромних нейронів. Вагомим проявом позитивного впливу вищеописаного методу корекції було збільшення кількості нормохромних нейронів у пірамідному та гангліонарному шарах кори (рис. 4). Це клітини округлої або овальної форми з чітко контурованим, центрально розміщеним ядром, базофільною каріоплазмою, добре вираженими відростками без ознак набряку.

Мікроскопічно визначалось відновлення структурної організації компонентів гемокapілярного русла порівняно з групою тварин, яким не проводили корекції. Значно зменшилися прояви периваскулярного набряку та стазу в судинах. Просвіти капілярів все ще залишалися помірно повнокровними, незначно розширеними, проте їхня стінка була добре контурована. Судинна стінка цих судин утворена одним шаром ендотеліоцитів,

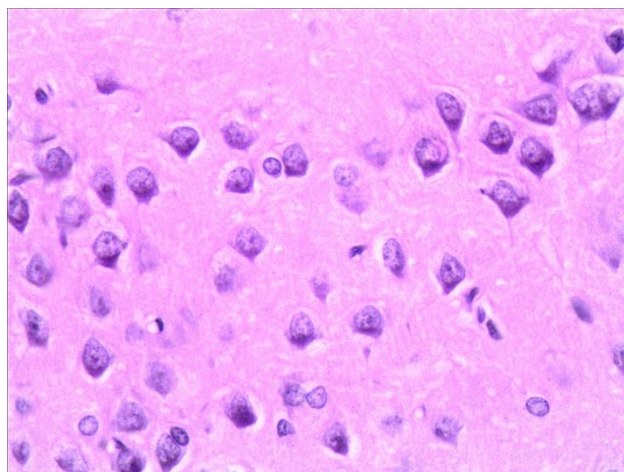


Рис. 4. Мікроскопічний стан кори півкуль великого мозку тварини за умов застосування композиції нанометалів. Переважання нормохромних нейронів, поодинокі гіпо- та гіперхромні нейрони. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 400

розміщених на чіткій базальній мембрані. Соми цих клітин мала веретеноподібну форму, з чітко окресленим та центрально розміщеним ядром із світлою каріоплазмою, невеликою кількістю органел, розміщених у цитоплазмі, переважно парануклеарно, у периферичних ділянках цитоплазми наявні чисельні кавеоли та мікропухирці. Люменальна поверхня ендотеліоцитів містила помірну кількість мікрворсинок (рис. 5).

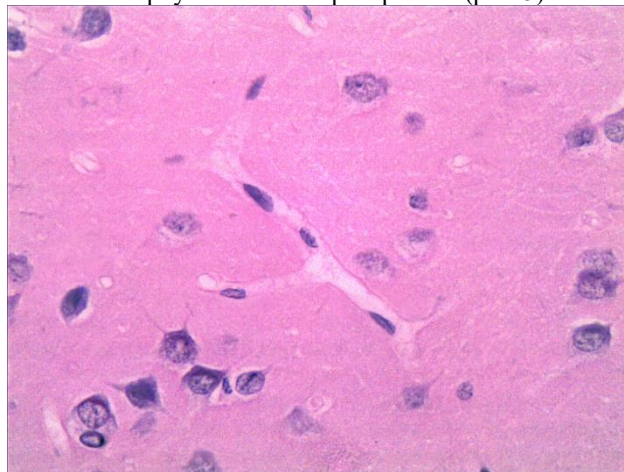


Рис. 5. Мікроскопічний стан кровоносного капіляра кори головного мозку тварини при застосуванні композиції НЧ Au/Ag/Fe. Гемокapіляр з помірним просвітом, нормохромні нейрони. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 200

Висновки. Результати наших гістологічних досліджень показали, що розвиток канцерогенезу, індукованого ДМГ, супроводжується суттєвими змінами у структурі нейронів кори великого мозку. Найбільш виразні деструктивні зміни в нейронах та компонентах гематоенцефалічного бар'єру проявляються на 7-му місяці експериментального моделювання неопластичного ураження товстої кишки. Застосування композиції НЧ Au/Ag/Fe з метою корекції негативного впливу розвитку та прогресування канцерогенезу на

головний мозок розкриває їх потенціал для зменшення альтеративних змін у структурі нейронів експериментальних тварин. Цей інноваційний метод відіграє значну роль у нейтралізації негативних впливів неопластичного процесу на морфологічну організацію кори великого мозку. Проведена корекція призводить до відновлення та нормалізації структурних компонентів кори головного мозку, зменшення альтеративних змін у нейронах та регенерації пошкоджених гемокapілярів органа.

Перспективи подальших розробок. Подальше вивчення коригувального впливу композиції НЧ на структурні компоненти кори великих півкуль може допомогти в розробці нових методів діагностики та лікування наслідків канцерогенезу. Встановлення механізмів, за якими наночастинки коригують структурні порушення в мозку, може вказати на нові точки втручання для боротьби з неопластичним ураженням.

References

- Hayes JD, Dinkova-Kostova AT, Tew KD. Oxidative stress in cancer. *Cancer Cell*. 2020;38(2):167-97. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.06.001.
- Cobley JN, Fiorello ML, Bailey DM. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biology* [Internet]. 2018 May;15:490-503. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231718300041>.
- Bailo P, Martín E, Calmarza P, Silvia Montolio Brevia, Adrián Bravo Gómez, Adela Pozo Giráldez, et al. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases and potential antioxidant therapies. *Advances in laboratory medicine*. 2022 Dec 1;3(4):342-50.
- Olufunmilayo EO, Gerke-Duncan MB, Holsinger RMD. Oxidative Stress and Antioxidants in Neurodegenerative Disorders. *Antioxidants* [Internet]. 2023;12:517. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox12020517>.
- Іванчук ІМ, Лісничук НС. Морфологічні зміни кори головного мозку щурів за умов ДМГ-індукованого експериментального канцерогенезу. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2023;2(22):64-73. DOI: 10.24061/1727-0847.22.2.2023.19.
- Debela DT, Muzazu SG, Heraro KD, Ndalama MT, Mesele BW, Haile DC, et al. New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE Open Medicine* [Internet]. 2021 Jan;9:205031212110343. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8366192/>.
- Gavas S, Quazi S, Karpiński TM. Nanoparticles for cancer therapy: Current progress and challenges. *Nanoscale Research Letters*. 2021;16(1). DOI:10.1186/s11671-021-03628-6.
- Altammar KA. A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*. 2023 Apr 17;14.
- Lisnychuk N, Dybkova S, Rieznicenko L, Vivchar Z. Can Au/Ag/Fe nanoparticle composition restore blood cell counts in terms of DMH-induced colon adenocarcinoma? *Modern issues of medicine and management*. 2021 Nov 16. DOI:10.52340/mid.2021.638.
- Council of Europe Treaty Series – Explanatory Reports. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg; 1986.
- Perše M, Cerar A. Morphological and Molecular Alterations in 1,2 Dimethylhydrazine and Azoxymethane Induced Colon Carcinogenesis in Rats. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011 Jan 1;2011:1-14. DOI: 10.1155/2011/473964.
- Колесник ВВ, Олійник ІО. Діагностичне значення методів дослідження для вивчення морфологічної перебудови структур головного мозку людини. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2013;3:238-43.
- Tian H, Zhang T, Qin S, Huang Z, Zhou L, Shi J, et al. Enhancing the therapeutic efficacy of nanoparticles for cancer treatment using versatile targeted strategies. *Journal of Hematology & Oncology* [Internet]. 2022 Sep 12;15(1):1-40. Available from: <https://web.p.ebscohost.com/ehost/detail/detail?vid=18&sid=bd42d523-31ee-4a18-b0ae-d370c7dfa02b%40redis&bdata=JnNpdGU9ZWZwhvc3QtbGl2ZQ%3d%3d#AN=159054402&db=a9h>

Відомості про авторів

Іванчук І.М. – аспірант кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, Україна. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1814-6318>.

Небесна З.М. – д-р біол. наук, професор, завідувачка кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, Україна. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6869-0859>.

Information about the authors

Ivanchuk I.M. – post-graduate student at the Department of Histology and Embryology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6869-0859>.

Nebesna Z.M. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Histology and Embryology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6869-0859>.

*Надійшла до редакції 24.08.23
Рецензент – проф. В.В. Кривецький
© І.М. Іванчук, З.М. Небесна, 2023*