

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТКАНЕВЫХ МАКРОФАГОВ И ТУЧНЫХ КЛЕТОК КАК НАЧАЛО ОРГАННОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ В РАМКАХ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ КРЕМНЕЗЕМА

Юкина Г. Ю.<sup>1</sup>, Журавский С. Г.<sup>1,2</sup>, Паневин А. А.<sup>1,2</sup>,  
Галагудза М. М.<sup>1,2</sup>, Томсон В. В.<sup>1</sup>, Блюм Н. М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

### Контактная информация:

Журавский Сергей Григорьевич  
ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова»  
Минздрава России  
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,  
Россия, 197341.  
E-mail: s.jour@mail.ru

Статья поступила в редакцию 27.03.2015  
и принята к печати 04.04.16.

### Резюме

Проведен анализ (крысы стока Wistar, самцы, 250–300 г, n = 36) хронической токсичности наночастиц кремнезема (НЧК), представленных в форме сфер диаметром 12–16 нм. Гистологическая картина органов крыс оценивалась спустя 7, 21 и 60 дней после однократного внутривенного введения 1 мл суспензии НЧК в дозе 2 мг/мл. Обнаружены миграция тучных клеток в ткань печени, легких и миокарда, образование макрофагальных «гранул инородных тел», формирование ложных долек, возникающих без предшествующих деструктивных процессов. Отмечено, что введение НЧК приводит к развитию хронического асептического продуктивного воспаления такого же характера, как в случае легочного силикоза при попадании в организм мелкодисперсной кристаллической формы кремнезема.

**Ключевые слова:** диоксид кремния, наночастицы 12–16 нм, хроническая *in vivo* токсичность, миграция тучных клеток, макрофагальные гранулемы, «гранулемы инородных тел», печеночный фиброз, соединительнотканное ремоделирование ткани.

Для цитирования: Юкина Г.Ю., Журавский С.Г., Паневин А.А., Галагудза М.М., Томсон В. В., Блюм Н.М. Взаимодействие тканевых макрофагов и тучных клеток как начало органного ремоделирования в рамках хронической токсичности наночастиц кремнезема. Трансляционная медицина. 2016; 3 (2): 70–79.

# MACROPHAGE GRANULOMAS AND MAST CELLS AS BEGINNING ORGAN REMODELING IN CASE OF SILICONE DIOXIDE NANOPARTICLES CHRONIC TOXICITY

Yukina G. Yu.<sup>1</sup>, Zhuravskii S. G.<sup>1,2</sup>, Panevin A. A.<sup>1,2</sup>,  
Galagudza M. M.<sup>1,2</sup>, Tomson V.V.<sup>1</sup>, Blum N.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pavlov First Saint Petersburg State Medical University,  
Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Federal Almazov North-West Medical Research Centre,  
Saint-Petersburg, Russia

## Corresponding author:

Sergei G. Zhuravskii,  
Federal Almazov North-West Medical  
Research Centre,  
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia,  
197341.  
E-mail: s.jour@mail.ru

Received 27 March 2015; accepted 04 April  
2016.

## Abstract

We studied 12–16 nm spherical silicone dioxide nanoparticles chronic toxicity on Wistar male rats (middle weight 250–300 g). We intravenously injected 1 ml silicone dioxide nanoparticles suspension and evaluated histological modifications in organs after 7, 21 and 60 days after injection. We detected mast cell migration into lungs, myocardium and liver tissues. Also we revealed macrophage granulomas around foreign bodies formation and liver tissue fibrous remodeling. This remodeling took place without precedence of destruction. We noticed that silicone dioxide nanoparticles injection was accompanied by evolution of chronic aseptic productive inflammation. The same type of inflammation take place in case of non-modified nanoparticles silicone dioxide intervention in sylicosis.

**Key words:** silicone dioxide, silicone nanoparticles 12-16 nm, silicone fibrosis, chronic in vivo toxicity, mast cells migration, macrophage granulomas, granuloma around foreign body, connective tissue remodeling, hepatic fibrosis, foreign body reaction.

*For citation: Yukina GYu, Zhuravskii SG, Panevin AA, Galagudza MM, Tomson VV, Blum NM. Macrophage granulomas and mast cells as beginning organ remodeling in case of silicone dioxide nanoparticles chronic toxicity. Translyatsionnaya meditsina = Translational Medicine. 2016; 3 (2): 70–79.*

## Введение

Диоксид кремния (кремнезем, SiO<sub>2</sub>), представленный в варианте дисперсных частиц наноразмерной величины, уже более 20 лет остается излюбленным объектом экспериментальных работ, посвященных совершенствованию способов лекарственной доставки [1, 2]. Вопрос потенциальной безопасности этого материала в связи с отсутствием однозначного заключения продолжает сохранять свою актуальность.

В ряде работ обсуждается хорошая биосовместимость или пути ее достижения, а так же способность биodeградации наночастиц кремнезема (НЧК) [3]. *In vitro* отмечена индифферентность материала в отношении сохранности плазмалеммы [4, 5], жизне-

способности и пролиферативной активности культуральных лимфоцитов при низких концентрациях [6]. *In vivo* при внутривенном введении показано отсутствие у НЧК свойств острой токсичности и изменения показателей системной гемодинамики [7, 8]. Отмечена полная элиминация частиц диаметром 20–25 нм в течение 15 дней путем гепатобилиарной экскреции [9]. Подтверждением представлений о биологической безопасности кремнезема служит давняя история его использования в качестве пищевой добавки (Е-551) и как наполнителя для твердых и мягких форм лекарственных препаратов [10].

В то же время существуют и столь же неопровержимые сведения о токсичности паренте-

рально вводимых НЧК, проявляющейся в первую очередь повреждением печени [11, 12]. Не вызывает сомнения роль мелкодисперсной кристаллической формы  $\text{SiO}_2$  в развитии хронической прогрессирующей интерстициальной патологии легких — пылевого кремнеземиндуцированного легочного силикоза [13]. Суспензией частиц  $\text{SiO}_2$  при ингаляционном, интраназальном введении стабильно достигается создание модели интерстициального фиброза легких [14, 15].

Хорошо известно, что патоморфологический субстрат легочного силикоза представляет собой продукт особенного ответа рыхлой волокнистой соединительной ткани. Хроническое асептическое воспаление, развивающееся при попадании кристаллов диоксида кремния, проявляется гиперпродукцией коллагена в условиях отсутствия повреждений (некрозов) [13, 14]. Процесс со временем приводит к фиброзу ремоделированию ткани органа. Ключевое участие в этом отводится тканевым «семафорам» — макрофагам (МФ) и тучным клеткам (ТК), что показано как на экспериментальном, так и на аутопсийном, и биопсийном материале [16–19].

Исходя из этих представлений, при характеристике биологической безопасности искусственных кремнеземсодержащих наноразмерных конструкций для медицинских целей предлагается гипотеза о возникновении изменений, схожих с легочным силикозом.

Цель работы — дать гистологическую оценку состоянию органов при парентеральном введении НЧК с учетом изменений, патогенетически связанных с компенсаторно-приспособительными реакциями соединительной ткани.

### Материал и методы

Исследование проведено на 36 самцах крыс стока Wistar массой 220–250 г, находящихся в стандартных условиях вивария конвенциональной категории. Животные были разделены на 3 группы: 1) интактная группа ( $n = 12$ ); 2) контроль ( $n = 12$ ) — с введением 1 мл физиологического раствора; 3) экспериментальная группа ( $n = 12$ ) — с введением 1 мл суспензии НЧК в физиологическом растворе.

Объектом исследования явился диоксид кремния (кремнезем, аэросил 175,  $\text{SiO}_2$ ), представленный в виде дисперсных частиц сферической формы с диаметром 12–16 нм (Aerosil, «Evonik Industries AG», Германия). Суспензия изучаемых НЧК с физиологическим раствором вводилась однократно в общем объеме 1 мл и с концентрацией кремнезема 2 мг/мл со скоростью 0,1 мл/мин при помощи шприцевого насоса. Инъекции проводили путем

катетеризации бедренной вены, выполнявшейся при соблюдении правил асептики и антисептики. Манипуляции с животными проводили в условиях анестезии раствором золетила (6 мг/кг), вводимого внутривенно.

Выведение из эксперимента и забор материала для исследования осуществляли по группам из 4 животных в каждой на 7, 21 и 60 сутки после введения НЧК. Для гистологического анализа использовали ткани сердца, печени, почек, легкого. Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине на фосфатном буфере (рН 7,4) в течение суток, обезжизняли в серии этанола возрастающей концентрации и заливали в парафиновые блоки по стандартной гистологической методике. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Для визуализации ТК применяли толуидиновый синий («Bio-Optica», Италия), соединительную ткань выявляли по методу Маллори («Bio-Optica», Италия). Микроскопический анализ проводили на световом микроскопе «Leica DM750» (Германия) при увеличении в 100, 400 и 1000 раз. Фотосъемку гистологических объектов выполняли, используя цифровую микрофотокамеру «ICC50» (Leica, Германия).

Оценку относительного объема полей соединительной ткани в печени, ТК в печени, легком, миокарде и почке проводили стереологическим методом точечного счета, используя тест-сетку окулярного микрометра с 25 точками при увеличении  $\times 280$ . Данные получали при регистрации 1000 точек. Тест-сеткой окулярного микрометра с 225 точками при увеличении  $\times 140$  оценивали относительный объем, занимаемый макрофагальными гранулами в печени. Регистрировали 1800 точек [20].

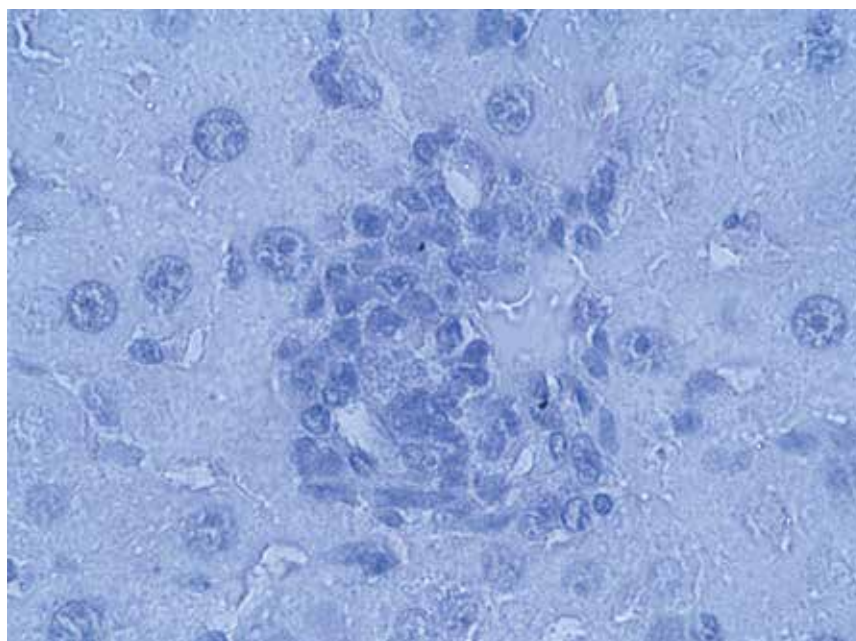
Статистическая значимость различий измеряемых параметров между группами рассчитывалась методом дисперсионного анализа ANOVA с помощью программного пакета «SAS 9.3». Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Изучаемые органы (печень, легкое, миокард, почка) животных после внутривенного введения физиологического раствора имели обычное гистологическое строение, которое не отличалось от такового у интактных крыс на аналогичных сроках исследования.

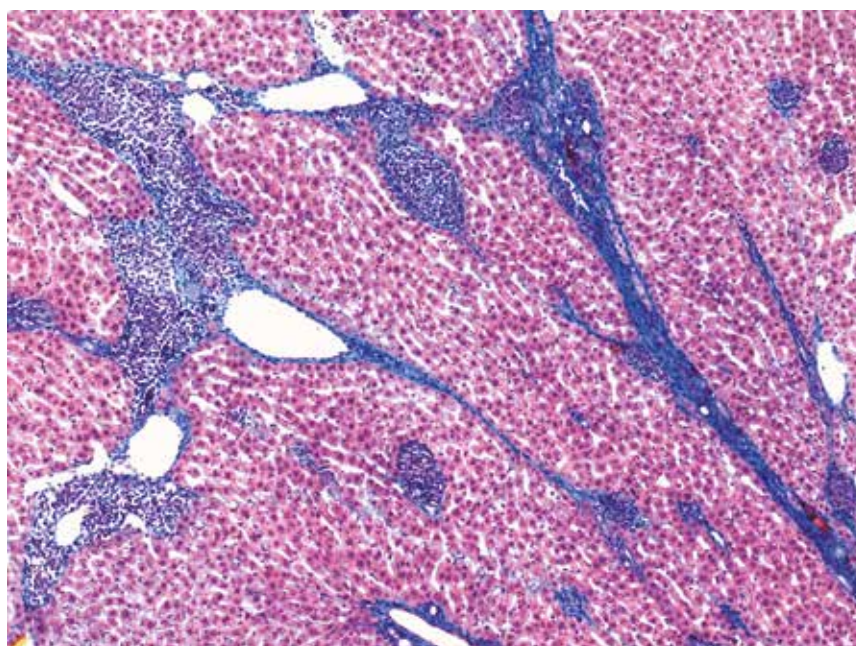
Внутривенное введение НЧК вызывало наибольшие изменения в ткани печени. Весь период наблюдения сохранялись дисциркуляторные расстройства. Артерии в печеночных триадах спазмированы, вены расширены, местами полнокровны. Центральные вены и синусоиды также расширены,

**Рисунок 1. Печень крысы на 21-й день после введения наночастиц кремнезема**



Скопление клеток макрофагальной группы (клеток Купфера), формирующих гранулему. Ув.  $\times 1000$ . Окраска гематоксилином-эозином.

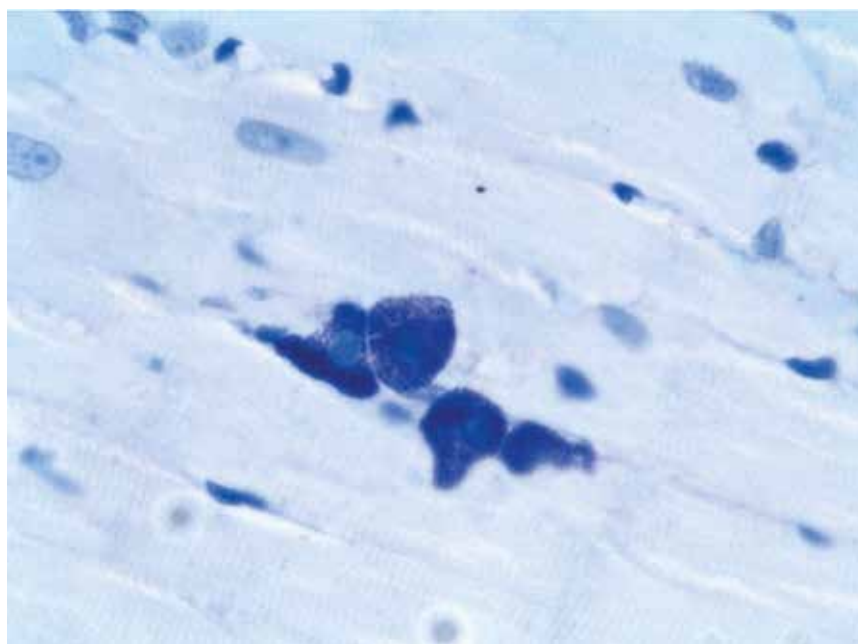
**Рисунок 2. Печень крысы на 60-й день после введения наночастиц кремнезема**



Разрастание соединительной ткани между макрофагальными гранулемами. Ув.  $\times 400$ . Окраска по методу Маллори.

выстилающий их эндотелий — набухший. К концу эксперимента во всех сосудах наблюдается стаз, в синусоидах наблюдается сладж-эффект эритроцитов. Отмечалась дискомплексация печеночных балок, зернистая дистрофия гепатоцитов. На всём протяжении синусоидов визуально выявлялось

увеличение количества клеток Купфера. В соединительной ткани вокруг триад наблюдается отек. На всех сроках эксперимента видны гепатоциты с агрегатами интернализированных частиц кремнезема. Последние часто локализовались в проекции ядер гепатоцитов. На более поздних сроках

**Рисунок 3. Миокард крысы на 60 день после введения наночастиц кремнезема**

Группа тучных клеток между волокнами кардиомиоцитов. Ув.  $\times 1000$ . Окраска толуидиновым синим.

отмечены конгломераты НЧК «в виде слепков», предполагающие их нахождение в просветах желчных ходов.

Особенностью патоморфологической картины в печени являлось образование гранул из клеток макрофагальной группы (рис. 1). Подобные очаги наблюдались единичными уже в начале эксперимента (с 7-го дня), увеличивались на последующих сроках и в количестве, и по распространению (табл. 1). Очагов воспаления, некроза или апоптоза не наблюдалось.

К 21-му дню в макрофагальных гранулах впервые появлялись коллагеновые волокна между клетками гранул. К 60-му дню отмечается умеренно выраженный фиброз портальных трактов. Вокруг гранул образуются соединительно-тканые тяжи, формирующие ложные дольки (рис. 2). Коллагеновые волокна выявлялись и в синусоидных капиллярах. ТК локализовались в соединительнотканых прослойках, преимущественно вокруг печеночных триад. Начиная с 21-х суток занимаемый ими относительный объем увеличен (табл. 2).

В легком начиная с 7-х суток эксперимента межальвеолярные перегородки визуально отмечались отечными и расширенными. Гемодинамические расстройства микроциркуляторного русла проявлялись полнокровием и расширением венул, спазмированием артериол. Визуально количество коллагеновых волокон в межальвеолярных перегородках возрастало только к концу эксперимента. ТК в легком располагались в основном в перибронхи-

альной соединительной ткани, гораздо в меньшем количестве субплеврально и в интерстиции между альвеолами. Их относительный объем был повышенным начиная с 21-го дня эксперимента.

Изменения в миокарде впервые отмечены только на 21-е сутки эксперимента. Наблюдалось выраженное полнокровие капилляров, местами незначительный отек ткани. К окончанию срока эксперимента появлялись единичные очаги разволокнения кардиомиоцитов. Увеличение количества коллагеновых волокон в соединительнотканых прослойках и между кардиомиоцитами отсутствовало. ТК располагались преимущественно между кардиомиоцитами (рис. 3) и существенно реже — периваскулярно. Их количество возрастало начиная с 21-х суток.

В ткани почки на всех сроках эксперимента наблюдали полнокровие клубочковых капилляров. Визуально увеличения мезангиальных клеток в почечных клубочках не наблюдалось. Сосуды коркового и мозгового вещества полнокровны. ТК выявлялись только в слизистой оболочке почечных лоханок и соединительной ткани ворот почек. Их количество на всех этапах эксперимента не изменялось.

### Обсуждение

Морфологические данные проведенного эксперимента выявили наиболее выраженные изменения в печени по сравнению с другими исследованными органами. Парентеральное введение НЧК сопровождалось развитием избыточного

**Таблица № 1. Относительный объем, занимаемый тучными клетками в печени, легких и миокарде, после введения наночастиц кремнезема (%)**

| Орган   | Группы   | 7<br>суток      | р | 21<br>сутки       | р     | 60<br>суток       | р     |
|---------|----------|-----------------|---|-------------------|-------|-------------------|-------|
| Печень  | Физ. р-р | $0,78 \pm 0,11$ |   | $0,74 \pm 0,09$   |       | $0,76 \pm 0,06$   |       |
|         | НЧК      | $0,86 \pm 0,13$ |   | $1,10 \pm 0,08^*$ | 0,018 | $1,14 \pm 0,13^*$ | 0,028 |
| Легкое  | Физ. р-р | $0,42 \pm 0,09$ |   | $0,48 \pm 0,15$   |       | $0,44 \pm 0,07$   |       |
|         | НЧК      | $0,46 \pm 0,06$ |   | $0,78 \pm 0,10^*$ | 0,021 | $0,72 \pm 0,04^*$ | 0,019 |
| Миокард | Физ. р-р | $0,4 \pm 0,06$  |   | $0,4 \pm 0,06$    |       | $0,4 \pm 0,06$    |       |
|         | НЧК      | $0,6 \pm 0,07$  |   | $0,68 \pm 0,07^*$ | 0,016 | $0,72 \pm 0,07^*$ | 0,013 |

**Примечание:** \* — различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателем в группе с введением физиологического раствора того же срока наблюдения.

**Таблица № 2. Динамика показателей относительного объема объектов морфометрии в печени после введения наночастиц кремнезема (%)**

| Объект морфометрии        | Группы   | 7<br>суток      | 21<br>сутки     | 60<br>суток       | р     |
|---------------------------|----------|-----------------|-----------------|-------------------|-------|
| Гранулемы                 | Физ. р-р | -               | -               | -                 |       |
|                           | НЧК      | $0,73 \pm 0,09$ | $0,89 \pm 0,09$ | $0,95 \pm 0,14$   |       |
| Поля соединительной ткани | Физ. р-р | $0,82 \pm 0,05$ | $0,80 \pm 0,09$ | $0,79 \pm 0,07$   |       |
|                           | НЧК      | $0,83 \pm 0,06$ | $1,13 \pm 0,06$ | $2,12 \pm 0,08^*$ | 0,021 |

**Примечание:** \* — различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателем в группе с введением физиологического раствора того же срока наблюдения.

представительства соединительной ткани в печени с формированием картины по типу «ложных долек» и образованием макрофагальных гранул. Степень изменений нарастала с увеличением срока эксперимента. Стойкость макрофагальных гранул в течение 2 месяцев, а по литературным данным — в течение 6 месяцев [12] (возможно, что и более), характеризует диоксид кремния как крайне низкий по критерию биodeградации материал. Характер макрофагальных образований в печени, возникающих в ответ на введение твердых дисперсных частиц, позволяет расценивать их как классические «гранулемы инородных тел». Важно, что точно такое же состояние гранулемообразования было отмечено Y. Yu с соавт. [21]. Особенности их результата являлось то, что этот феномен наблюдали при существенно больших (в 5–8 раз) дозах НЧК, при более раннем сроке (14 дней) и на более чувствительной биологической тест-системе

(мышцах). В сочетании с нашими данными это может указывать на наличие дозозависимого эффекта при введении НЧК парентеральным способом.

Отмечаемое на более поздних сроках увеличение количества соединительной ткани и характер ее распределения указывают на повышение пролиферативной и секреторной активности фибробластов. Характерно, что этому не предшествовали явные деструктивные процессы в ткани печени. Схожесть наших гистологических находок с теми, которые развиваются в легком при ингаляционном попадании частиц кремнезема [13, 14, 22] указывает на общий патогенез некоторых патологических процессов в органах различных систем, но одинаково несущих барьерную функцию и, в частности, имеющих значительное представительство пула резидентных мононуклеаров. На патоморфологическом субстрате при электронно-микроскопическом исследовании ткани легкого при силикозе показано, что частицы

кремнезема локализируются в фагосомах альвеолярных МФ [23]. Именно фагоцитирующие МФ, как первичное звено иммунологического ответа на экзогенный фактор (в том числе кремнезем), становятся триггерами для последующих процессов, приводящих к морфологической перестройке соединительной ткани, выступая активными продуцентами цитокинов, прежде всего ИЛ-1 [16, 24, 25]. Последний, являясь основным медиатором неспецифической защиты, провоцирует эффекты ТК, в частности, их IgE-независимую дегрануляцию [26]. Характерно, что миграция ТК была также отмечена на нашем материале как яркий патоморфологический феномен. В свою очередь, триптазе и химазе гранул ТК отводится ведущая роль в активации как пролиферации, так и секреторной способности фибробластов, эпителиальных и гладкомышечных клеток. Последнее наблюдается и в условиях интернализации кремнезема [27, 28]. Таким образом, гуморальная экскреция тканевых МФ и мигрирующих ТК становится ключом соединительнотканного ремоделирования стромы органа. При этом признаки как гиперсинтетического, так и пролиферативного поведения фибробластов отмечаются уже на ранних сроках инкорпорации экзогенного  $\text{SiO}_2$  [22]. Важно обратить внимание, что фиброгенез в нашем случае представляет собой не *итог* тканевой деструкции (замещение участков), а как самостоятельный перманентно-генерируемый *процесс* соединительнотканного ремоделирования органа (по аналогии с легочным силикозом) [29].

Протекание асептического воспаления в виде диффузного гранулематоза определяется невозможностью резидентных фагоцитов выполнить свою функцию (как клеток Купфера, так и альвеолярных МФ). Речь идет о возникновении незавершенного фагоцитоза, поскольку материал данных дисперсных частиц является иммунологически-инертным и одновременно плохо биodeградируемым ксенобиотиком. При этом место инициации  $\text{SiO}_2$ -гранулемообразования (место своеобразного «первичного аффекта») будет формироваться в том органе, макрофагальный барьер которого окажется первым на пути проникающих в организм НЧК. Так, в нашем случае гранулемообразование объясняется неспецифической реакцией резидентных мононуклеарных фагоцитов печени (клеток Купфера) в условиях незавершенного фагоцитоза твердых инородных частиц, попадающих в организм при внутривенном введении. Наблюдаемое нами органное ремоделирование в результате прогрессирующего фиброгенеза без предшествующей деструкции в органе-мишени (печени) можно считать результатом активации М2-субпопуляции МФ в ответ на  $\text{SiO}_2$ -стимуляцию.

Заметим для понимания, что М2-тип дифференцировки делает МФ ответственными за противовоспалительный, ранозаживляющий (т.е., связанный со стимуляцией пролиферации), а также, возможно, что и за онкогенный эффект [19, 30].

Надо обратить внимание, что достаточно быстрое после введения суспензии НЧК уменьшение атомного спектра кремнийспецифичной активности в ткани печени [7] переходит в этап неопределенно долгой персистенции кремниевого пула в органе [12]. Эта первая реакция, надо понимать, является результатом не биodeградации материала кремнезема, а элиминации НЧК в неизменном виде. Выделение последних, должно быть, происходит по тому механизму клиренса с участием «звездчатых клеток», который наблюдал немецкий анатом и гистолог Карл Вильгельм Купфер (Karl Wilhelm von Kupffer) еще в конце XIX в классическом эксперименте с введением туши [31]. Отмеченные в нашем исследовании крупные фигуры в форме слепков из конгломератов кремнезема, должно быть, являются скоплением НЧК в желчных ходах.

Как нам представляется, медленная биodeградация интернализированного в МФ пула НЧК, проходящая путем ступенчатой эрозии поверхности частиц [7], становится источником *in situ* водорастворимых соединений кремниевой кислоты. Предполагается, что к ним проявляют особую чувствительность как резидентные фагоциты, так и элиминируемые из костного мозга моноциты и ТК. Последние в свою очередь и мигрируют в тот орган-мишень, который оказывается источником хемоаттрактантов. Моноцитарный пик в кровотоке, наблюдаемый в первые 3–10 дней после введения частиц  $\text{SiO}_2$  [12], может рассматриваться предтечей увеличения интраорганного пула ТК. Последнее для печени наблюдалось на 21-й день после введения  $\text{SiO}_2$ , для легкого — на 60-й. Заметим, что появление в ткани печени ТК по времени сопоставимо с активацией гранулоцитарного ростка, наблюдаемого в костномозговом кроветворении к 28 дню после введения  $\text{SiO}_2$  [12].

Для НЧК, попадающих в почку, также экскреторный орган, предполагается элиминация путем фильтрации с последующим выведением канальцами. Это наблюдали для НЧК размером 3–6 нм [32]. Наблюдаемое в нашем случае полнокровие клубочковых капилляров допускает вовлечение в этот процесс фагоцитарного участия подоцитов и мезангиальных клеток. Пул ТК в почке в ходе эксперимента не изменялся. Отсутствие реакции ткани этого органа может объясняться неимением у него функции барьера, работающего на предотвращение проникновения ксенобиотиков, и, соответственно, гораздо

более скромном представительстве резидентных мононуклеарных фагоцитов [33].

Морфологические изменения в миокарде отмечались лишь на 60-й день эксперимента и были представлены только увеличением количества ТК. И в этом случае характер изменений также объясняется отсутствием у этой ткани барьерной, дезинтоксикационной и экскреторной функций. Мы предполагаем, что исходно малый пул собственных резидентных МФ определяет и более скромные объемы интернализации НЧК в органе, и как следствие, заметно меньшее образование *in situ* продуктов биodeградации  $\text{SiO}_2$ . Гиперпродукция соединительной ткани неповрежденного миокарда в соответствии с нашей гипотезой ожидаема при более длительных сроках эксперимента и в более скромных масштабах. Специфические ИГХ-методы анализа, как мы полагаем, смогли бы продемонстрировать это и в сроки нашего эксперимента.

В условиях использованного методического обеспечения невозможно было верифицировать в легочной паренхиме динамику стромального соединительнотканного компонента. В тоже время, отмеченное повышение относительного объема ТК может указывать на инициацию (в текущий момент или в дальнейшем) прохождения и в этом органе неспецифической гиперплазии соединительной ткани. Говоря о ТК-реакции в общем, следует обратить внимание, что выявленный ее градиент «печень >> легкие = миокард > почки» (табл. 1) соответствует градиенту органной аккумуляции НЧК, наблюдаемой в других исследованиях *in vivo* [21, 30]. При этом, полагаем, что вовлеченность ТК является общим звеном ответа на внутривенное введение наночастиц, материал которых несет потенциал отсроченных токсических эффектов.

Известные сведения о пылевом кремнеземе, факторе профессиональной вредности для развития легочного силикоза, не позволяют допускать возможность безопасности парентерального введения НЧК. Внутривенное введение НЧК вызывает патоморфологические изменения в печени аналогичные изменениям в легких при ингаляционном введении. Ремоделирование органной структуры печени также становится результатом *неальтернативного (нецитолитического)* механизма повреждения [8]. В обоих случаях этому способствует крайне медленная биodeградация интернализованного пула  $\text{SiO}_2$  [7]. С учетом известного максимального срока наблюдения макрофагальных гранул в печени в течение 6 месяцев, можно ожидать еще и более продолжительную персистенцию наночастиц  $\text{SiO}_2$  в органе [12]. Об этом же говорят и результаты исследования материала биоптатов легочной ткани, когда присут-

ствие конгломератов  $\text{SiO}_2$  обнаруживалось и спустя 10–15 лет после прекращения работы на вредном производстве [34]. Заметим, что  $\text{SiO}_2$ , в сравнении с классическим биологическим фактором гранулемогенеза — вакциной BCG, оказывается более мощным гранулемогенным фактором [35], и видимо, индуктором фиброгенеза.

Таким образом, однократное парентеральное введение кремнезема в виде объектов наноразмерной величины становится повреждающим событием для организма. Искусственное придание частице сферической формы не лишает ее повреждающего потенциала, характерного для кристаллического вида кремнезема и приводящего к развитию кремниевого легочного силикоза. Ранним проявлением системных патоморфологических изменений в ответ на попадание в кровь иммунологически инертного и одновременно с этим плохо биodeградируемого ксенобиотика, становится гранулематоз из клеток Купфера с формированием «гранул инородных тел» и последующая миграция в ткань печени ТК. Взаимодействие этих двух клеточных популяций в условиях длительной персистенции дисперсных частиц  $\text{SiO}_2$  приводит к прогрессивному процессу фиброгенеза. Отсутствие морфологических признаков воспаления, некроза и апоптоза, а также биохимических маркеров цитолиза клеточной паренхимы печени, почек [8, 21] свидетельствуют о том, что мы имеем дело с процессом не заместительного (в ответ на деструкцию), а первичного характера, со временем приводящего к соединительнотканному ремоделированию органа.

Планом будущего исследования станет эксперимент с более длительным периодом наблюдения для понимания итогов межклеточного взаимодействия в системе «макрофаг — тучная клетка — фибробласт». После этого станет возможно уяснить динамику фиброгенеза в печени, а также определить, появится ли и в какой степени будет выражена соединительнотканная перестройка миокарда и легкого.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Список литературы / References

1. Naumysheva EB, Umenushkina EV, Evreinova NV et al. Biodegradation and biocompatibility of nanosized silica as a carrier for targeted drug delivery. *Nanotehnologii i ohrana zdorov'ja*=Nanotechnology and public health. 2011; 2: 30-36. In Russian. [Наумышева Е.Б, Уменушкина Е.В, Евреинова Н.В. и др. Биodeградация и биосовместимость нанодисперсного кремне-

зема как носителя для направленной доставки лекарственных препаратов. Нанотехнологии и охрана здоровья. 2011; 2: 30-36].

2. Galagudza M, Korolev D, Sonin D, et al. Targeted drug delivery to ischemic heart with use of nanoparticulate carriers: Concepts, pitfalls and perspectives. *Journal of Manufacturing Technology Management*. 2010; 21(8): 930-949.

3. Slowing II, Vivero-Escoto JL, Wu CW, et al. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60(11): 1278-1288.

4. Malvindi MA, Brunetti V, Vecchio G, et al. SiO<sub>2</sub> nanoparticles biocompatibility and their potential for gene delivery and silencing. *Nanoscale*. 2012; 4: 486-495.

5. Ubaldi C, Giudetti G, Broggi F, et al. Amorphous silica nanoparticles do not induce cytotoxicity, cell transformation or genotoxicity in Balb/3T3 mouse fibroblasts. *Mutat Res*. 2012; 745:11-20.

6. Andreeva ER, Rudimov EG, Gornostaeva AN, et al. In vitro study of interactions between silicon-containing nanoparticles and human peripheral blood leukocytes. *Bull Exp Biol Med*. 2013; 155(3): 396-398.

7. Galagudza M, Korolev D, Postnov V, et al. Passive targeting of ischemic-reperfused myocardium with adenosine-loaded silica nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. 2012; 7: 1671-1678.

8. Ivanov S, Zhuravsky S, Yukina G, et al. In vivo toxicity of intravenously administered silica and silicon nanoparticles. *Materials*. 2012; 5: 1873-1889.

9. Kumar R, Roy I, Ohulchanskyy TY, et al. In vivo biodistribution and clearance studies using multimodal organically modified silica nanoparticles. *ACS Nano*. 2010; 4(2): 699-708.

10. Yoon Yeo. Nanoparticulate drug delivery systems: strategies, technologies and applications. 2013. 324 p.

Xie G, Sun J, Zhong G, et al. Biodistribution and toxicity of intravenously administered silica nanoparticles in mice. *Archives of Toxicology*. 2010; 84(3):183-190.

11. Shkurupiy VA, Nadeev AP, Karpov MA, et al. Experimental cytomorphological studies of the reaction of mononuclear phagocyte system in granulomatosis of mixed (silicotic and tuberculous) etiology. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2010; 149(4): 462-465.

12. Lemaire I. Silica- and asbestos-induced pulmonary fibrosis. In: Phan S.H, Thrall R.S, editors. *Pulmonary Fibrosis*. New York: Marcel Dekker, 1995. 319-362.

13. Deb U, Lomash V, Raghuvanshi S, et al. Effects of 28 days silicon dioxide aerosol exposure on respiratory parameters, blood biochemical variables and lung histopathology in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2012; 34(3): 977-984.

14. Lakatos HF, Burgess HA, Thatcher TH, et al. Oropharyngeal aspiration of a silica suspension produces a superior model of silicosis in the mouse when compared to intratracheal instillation. *Exp. Lung Res.* 2006; 32(5): 181-199.

15. Hamilton RF Jr, Thakur SA, Holian A. Silica binding and toxicity in alveolar macrophages. *Free Radic. Biol. Med.* 2008; 44(7): 1246-1258.

16. Suzuki N, Horiuchi T, Ohta K, et al. Mast cells are essential for the full development of silica-induced pulmo-

nary inflammation: a study with mastcell-deficient mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1993; 9(5): 475-483.

17. Kawanami O, Ferrans VJ, Fulmer JD, et al. Ultrastructure of pulmonary mast cells in patients with fibrotic lung disorders. *Lab. Invest.* 1979; 40(6): 717-734.

18. Hoppstädter J, Seif M, Dembek A, et al. M2 polarization enhances silica nanoparticle uptake by macrophages. *Front Pharmacol.* 2015; 6: 55.

19. Bykov VL, Pryanishnikov VA. Quantitative histochemical and stereological study of alkaline phosphatase in rat thyroid gland. *Histochemistry*. 1978; 58: 129-134.

20. Yu Y, Li Y, Wang W, et al. Acute toxicity of amorphous silica nanoparticles in intravenously exposed ICR mice. *PLoS One*. 2013;8(4).

21. Shkurupiy VA, Kim LB, Potapova OV, et al. Fibrogenesis in granulomas and lung interstitium in tuberculous inflammation in mice. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2014; 15(66): 731-735.

22. Kumasaka T, Akaike Y, Nakamura O, et al. Rare pneumoconiosis induced by long-term amorphous silica exposure: the histological characteristics and expression of cyclooxygenase-2 as an antifibrogenic mediator in macrophages. *Pathol. Int.* 2011; 61(11): 667-671.

23. Liu T, Li L, Fu C, et al. Pathological mechanisms of liver injury caused by continuous intraperitoneal injection of silica nanoparticles. *Biomaterials*. 2012; 33(7): 2399-2407.

24. Kojima S, Negishi Y, Tsukimoto M, et al. Purinergic signaling via P2X7 receptor mediates IL-1 $\beta$  production in Kupffer cells exposed to silica nanoparticle. *Toxicology*. 2014; 321: 13-20.

25. Puxeddu I, Piliponsky AM, Bachelet I, et al. Mast cell in allergy and beyond. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003; 35: 1601-1607.

26. Takato H, Yasui M, Ichikawa Y, et al. The specific chymase inhibitor TY-51469 suppresses the accumulation of neutrophils in the lung and reduces silica-induced pulmonary fibrosis in mice. *Exp. Lung Res.* 2011; 37(2): 101-108.

27. Kosanovic D, Dahal BK, Wygrecka M, et al. Mast cell chymase: an indispensable instrument in the pathological symphony of idiopathic pulmonary fibrosis? *Histol. Histopathol.* 2013; 28(6): 691-699.

28. Wallace WAH, Fitch PM, Simpson AJ, et al. Inflammation-associated remodelling and fibrosis in the lung — a process and an end point. *Int. J. Exp. Pathol.* 2007; 88(2): 103-110.

29. Herd HL, Bartlett KT, Gustafson JA, et al. Macrophage silica nanoparticle response is phenotypically dependent. *Biomaterials*. 2015; 53: 574-582.

30. Wake K. Karl Wilhelm Kupffer And His Contributions To Modern Hepatology. *Comp Hepatol.* 2004; 3: 1-6.

31. Burns AA, Vider J, Ow H, et al. Fluorescent silica nanoparticles with efficient urinary excretion for nanomedicine. *Nano Lett.* 2009; 9(1): 442-448.

32. Moore A, Marecos E, Bogdanov A, et al. Tumoral distribution of long-circulating dextran-coated iron oxide nanoparticles in a rodent model. *Radiology*. 2000; 214: 568-574.

33. Delgado L, Parra ER, Capelozzi VL. Apoptosis and extracellular matrix remodelling in human silicosis. *Histopathology*. 2006; 49(3): 283-289.

34. Karpov MA, Skurupiy VA, Nadeev AP. Analysis of fibrotic depositions in granulomas in chronic silicotuberculosis in mice. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2010; 149(5): 659-662.

**Информация об авторах**

Юкина Галина Юрьевна — к.б.н., зав. лаб. патоморфологии НИЦ, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;

Журавский Сергей Григорьевич — д.м.н., рук. группы экспериментальной патоморфологии СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова МЗ РФ, ведущий научный сотрудник лаб. слуха и речи НИЦ ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Паневин Алексей Александрович — младший научный сотрудник вивария Института экспериментальной медицины СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова МЗ РФ, аспирант лаб. слуха и речи НИЦ ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;

Галагудза Михаил Михайлович — д.м.н., профессор РАН, директор Института экспериментальной медицины СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова МЗ РФ, профессор кафедры патофизиологии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова;

Томсон Владимир Викторович — д.м.н., директор НИЦ ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова Минздрава России, профессор кафедры патологической анатомии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова;

Блюм Наталья Михайловна — научный сотрудник лаб. патоморфологии НИЦ, ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;

**Author information**

Galina Yu. Yukina, PhD, Head, Laboratory of Pathomorphology, Research Center of First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg;

Sergey G. Zhuravskii, MD, Head, Group of Experimental Pathomorphology, Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Leading Researcher, Laboratory of Hear and Speech, First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg;

Aleksey A. Panevin, Young Researcher, Vivarium, Institute for Experimental Medicine of Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Doctoral Student, Laboratory of hear and speech, First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg;

Michael M. Galagudza, MD, Head, Institute for Experimental Medicine, Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Professor, Department for Pathophysiology, First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg;

Vladimir V. Thomson, PhD, Professor, Director, Research Center, First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg;

Natalia M. Blum, Researcher, Laboratory of Pathomorphology, Associate Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg.