

УДК [546.815-168:612.79]:616-092:57.084

<https://doi.org/10.33573/ujoh2019.03.228>

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ШУРІВ ЗА ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ В ЧЕРЕВНУ ПОРОЖНИНУ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ ЗАЛІЗА (Fe_2O_3)

Луговський С. П., Дмитруха Н. М., Діденко М. М., Бакало Л. В., Лагутіна О. С., Мельник Н. А.

Державна установа «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва Національної академії медичних наук України», м. Київ

Вступ. Серед наночастинок (НЧ) металів НЧ оксидів заліза (НЧОЗ) набувають особливого значення, оскільки широко використовуються в сільському господарстві, медицині та фармацевті. Експозиція НЧОЗ може відбуватися на етапі їхнього виробництва, застосування та утилізації, а також за особливих умов на підприємствах кольорової та чорної металургії, під час виконання різних операцій з виплавки металу, різання та зварювання металевих конструкцій. Маючи високу біологічну активність, НЧОЗ сьогодні залишаються не достатньо вивченими стосовно їхнього впливу на різні органи та системи організму.

Мета дослідження – визначення морфофункціональних змін у внутрішніх органах шурів (серце, печінка, нирки, підшлункова залоза) за тривалого введення в черевну порожнину різних за розміром НЧ Fe_2O_3 .

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено на 24 шурах-самцях Вістар масою 150–180 г, розподілених на 3 групи: 1 контрольну і 2 дослідні. В експерименті були використані колоїди оксиду заліза (Fe_2O_3) з середнім розміром НЧ 19 нм і 75 нм. Колоїдні розчини вводили в черевну порожнину (5 днів на тиждень), усього – 30 введень. Виконано морфологічні дослідження внутрішніх органів (серце, печінка, нирки, підшлункова залоза) з використанням загальноприйнятих і спеціальних гістологічних і гістохімічних методик, а також визначено біохімічні показники, що характеризують функціональний стан печінки, нирок, ліпідний, вуглеводний і білковий обміни за допомогою біохімічного аналізатора VITLAB FLEXOR E (Нідерланди) і стандартних тест-наборів Elitech (Франція).

Результати. Встановлено, що тривале введення в черевну порожнину шурів НЧ Fe_2O_3 супроводжується накопиченням у цитоплазмі кардіоміоцитів, гепатоцитів і клітин нефротелію дрібних кристалоподібних включень. Це свідчить про кумуляцію НЧ Fe_2O_3 в органах-мішенях, що призводить до дистрофічних і некробіотичних процесів у клітинах і визначає ефект токсичної дії. Кардіовазотоксична дія НЧ Fe_2O_3 проявлялась порушенням кровообігу в системі мікроциркуляторного руслу, про що свідчить стаз крові у просвітах капілярів і вен. Ураження печінки протікали з порушенням антитоксичної та метаболічної функцій та обмінних процесів. Більш виражені зміни всіх показників мали місце у тварин, яким вводили НЧ Fe_2O_3 19 нм, що вказує на їхню більшу біологічну та токсичну активність. Вплив НЧ Fe_2O_3 обох розмірів на нирки дослідних шурів супроводжувався повнокров'ям капілярів ниркових клубочків, розширенням просвітів капсули ниркового тільця та зернистою дистрофією клітин проксимального епітелію, що свідчить про порушення процесів клубочкової фільтрації та каналцевої реабсорбції. У підшлунковій залозі шурів ефект токсичної дії характеризувався порушенням кровообігу та дистрофічними змінами ацинарних клітин та інсулоцитів підшлункових острівців, що характеризує зниження їхньої функціональної активності, більш характерне для НЧ Fe_2O_3 19 нм.

Висновки. Наночастинки Fe_2O_3 за тривалого введення в черевну порожнину шурів акумулюються в органах-мішенях (серце, печінка, нирки) і викликають у них широкий спектр структурних і функціональних змін, які свідчать про їхню кардіо-вазотоксичну, гепатотоксичну та нефротоксичну дію.

Ключові слова: наночастинки оксиду заліза Fe_2O_3 , печінка, нирки, підшлункова залоза, серце, обмінні процеси

Вступ

Серед наночастинок (НЧ) металів НЧ оксидів заліза (НЧОЗ) набувають особливого значення, оскільки широко використовуються в сільському господарстві, медицині та фармацевті [1, 2].

Оксид заліза Fe_2O_3 у вигляді НЧ, які мають унікальні парамагнітні властивості, застосовується в медицині, зокрема, для адресної доставки ліків, як контрастна речовина для МРТ діагностики, для гіпертермії пухлин і патологічних вогнищ, а також у

фармації як біологічно активні речовини нового класу. Використання НЧ Fe_2O_3 з метою діагностики та лікування онкологічних захворювань передбачає введення їх в організм людини, взаємодію з клітинами різних органів та їхніми структурами, що в свою чергу може впливати на їхню функцію [3].

Експозиція НЧОЗ може відбуватись на етапі виробництва, застосування та утилізації наноматеріалів [2, 4], що їх містять, а також за особливих умов на підприємствах кольорової та чорної металургії, під час різання й зварювання металевих конструкцій [5].

Відомо, що в умовах надлишкового надходження заліза в організм понад фізіологічної потреби відбувається його накопичення в клітинах різних органів (особливо печінка), що призводить до розвитку запальної реакції, апоптозу, некрозу клітин, і може визначати патогенез більшості захворювань [5–7].

У дослідженнях R. Weissleder та співавт. [8] на прикладі міченого ізотопом ^{59}Fe AMI-25 показано дуже швидке накопичення НЧОЗ (через 1 год) у печінці та селезінці (до 90 % введеної дози) і зовсім незначну кількість препарату виявлено в інших органах, зокрема, нирках, легенях і мозку. Це підтверджено серією гістологічних досліджень печінки, які показали накопичення заліза в клітинах Купфера по всій протяжності печінкових часточок протягом перших годин після введення. Дослідження на ультрамалих суперпарамагнітних оксидах заліза (USPIO), мічених ізотопом ^{59}Fe , показало, що, окрім типового для НЧОЗ накопичення в печінці й селезінці, значна частина їх депонується в лімфатичних вузлах (3,6 %/г) і кістковому мозку (2,9 %/г).

Іншими авторами [9] досліджено, що інтратрахеальне введення шурів НЧ магнетиту (Fe_3O_4) 10 нм і 50 нм сприяло їхньому накопиченню в макрофагах і нейтрофілах легень та органах, багатих клітинами ретикуло-ендотеліальної системи. Більш виразні зміни в печінці шурів були визначені після введення НЧ Fe_3O_4 50 нм.

З огляду на особливі властивості НЧОЗ, зокрема їхню підвищену біологічну активність, акумуляцію у внутрішніх органах і повільну елімінацію, дослідження їхнього впливу на стан внутрішніх органів і систем організму є важливою медико-біологічною проблемою, проте мало вивченою.

Мета дослідження – визначення морфофункціональних змін у внутрішніх органах шурів (серце, печінка, нирки, підшлункова залоза (ПЗ) за трива-

лого введення в черевну порожнину різних за розміром НЧ Fe_2O_3 .

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведені на 24 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар з початковою масою 150–180 г, яких утримували в стандартних умовах віварію, згідно з рекомендаціями [10] на стандартному харчовому раціоні (гранульований корм) із вільним доступом до водогінної води, яку відстоювали не менше ніж 24 год. Усі маніпуляції з тваринами проводили з дотриманням основних положень «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.) [11], які схвалені Комітетом з біоетики НАН України.

Щури були розподілені на 3 групи по 8 тварин у кожній (2 піддослідні групи та 1 контрольна). Піддослідним щурам щодня (5 днів на тиждень) за допомогою шприца в черевну порожнину вводили колоїдний розчин НЧОЗ (Fe_2O_3) з розміром частинок 19 нм (1 група) і 75 нм (2 група), із розрахунку 0,001 ммол/100 г маси (у перерахунку на Fe_2O_3 , усього 30 введень). Колоїди НЧ Fe_2O_3 були отримані методом хімічного синтезу з конденсацією НЧ у водних розчинах желатину (0,5–0,1 %) в Інституті фізичної хімії імені Л. В. Писаржевського НАНУ. НЧОЗ були стандартизовані за масовою часткою хімічної речовини (Fe_2O_3 ; 0,01 ммоль/л; 0,0239 г/л). За умови, що середній розмір НЧ Fe_2O_3 дорівнював 19 нм і 75 нм, концентрація НЧ у колоїдних розчинах дорівнювала $1,38 \cdot 10^{13}$ /мл і $0,85 \cdot 10^{11}$ /мл відповідно. Таким чином, при однаковій масовій концентрації Fe_2O_3 (0,01 ммоль/л) колоїди НЧ, які використовували для введення в черевну порожнину шурів, відрізнялися між собою за розміром НЧ і концентрацією в одиниці об'єму.

З експерименту тварин виводили шляхом декапітації після попередньої наркотизації 2,5 % розчином 2,2,2-трибромметанолу («Aldrich») у 2-метилбутанолі (робоче розведення 1:50 у PBS) із розрахунку 300 мг/кг. Для біохімічних досліджень використовували кров шурів, з якої методом центрифугування (15 хв при 10 000 об/хв) отримували сироватку, а для морфологічних досліджень – внутрішні органи: серце, печінку, нирки та ПЗ.

У сироватці крові визначали показники: активності ферментів аланінамінотрансферази (АЛТ), аспаратамінотрансферази (АСТ), лужної фосфатази (ЛФ) і

α -амілази, а також концентрації сечової кислоти, креатиніну, загального білка, альбуміну, глюкози, холестерину та тригліцеридів. Дослідження проводили за допомогою біохімічного аналізатора VITLAB FLEXOR E (Нідерланди) і стандартних тест-наборів Elitech (Франція), згідно з методичними рекомендаціями, інструкціями до приладу і тест наборів [12].

Для морфологічних досліджень з внутрішніх органів щурів (лівий шлуночок серця, печінка та нирки) вирізали шматочки товщиною 0,5 см і площею не більше ніж 1 см², які занурювали в 10 % розчин нейтрального формаліну для фіксації впродовж 72 год. Фіксацію ПЗ проводили у фіксаторі Буена. Після фіксації шматочки промивали у воді, зневоднювали в серії етанолів (70 %, 80 %, 96 % і 100 %), просвітлювали у ксилолі та ущільнювали в парафін (парапласт) за стандартним протоколом [13]. З парафінових блоків готували мікромомні зрізи товщиною 5–7 мкм, які фарбували гематоксиліном і еозином за методом MSB та альдегід-фуксином (АФ) за Гоморі [13]. Також на парафінових зрізах проводили гістохімічну реакцію Перлса (реакція на берлінську лазур) для виявлення сполук Fe⁺² [13]. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа Olimpus BX 54 із системою поляризаційних фільтрів, а виявлені зміни документували за допомогою фотокамери Olimpus C-5050 ZOOM з програмним забезпеченням Olimpus DP-Soft.

Статистичну обробку результатів біохімічних досліджень проводили з використанням методів непараметричної статистики за допомогою програмного продукту «Statistica Basic» 13.3 for Windows («Stat Soft»; SN: AXA905I924220FAACD-N). Перевірку статистичних гіпотез проводили за критерієм U (Манна-Уїтні-Уїлкоксона) при прийнятому рівні значимості $\alpha = 0,005$. Результати представляли мінімальними (min) і максимальними (max) значеннями перемінних, медіани (Me) та значеннями міжквартильних інтервалів (25–75 %).

Результати дослідження та їх обговорення

Результати проведених біохімічних досліджень показали, що тривалий вплив НЧ Fe₂O₃ із середнім розміром частинок 19 нм і 75 нм супроводжувався значимими ($p < 0,05$) порівняно з контролем змінами в щурів групи 1 і 2 активності ферментів АЛТ, АСТ і ЛФ (таблиця), що є загально відомими біо-

хімічними маркерами структурно-функціонального стану гепатоцитів і кардіоміоцитів. Разом із цим було встановлено, що у тварин групи 1, які зазнавали дії НЧ Fe₂O₃ розміром 19 нм активність ферментів АЛТ, АСТ і ЛФ значимо ($p < 0,05$) відрізнялася від їхньої активності в щурів групи 2, які зазнавали дії НЧ Fe₂O₃ із середнім розміром частинок 75 нм (таблиця), що може свідчити про відмінності ефектів гепато- і кардіотоксичної дії різних за розміром НЧОЗ.

Результати вивчення біохімічних показників білкового обміну за дії різних за розміром НЧ Fe₂O₃ показали, що вплив НЧОЗ не викликав у піддослідних щурів групи 1 і 2 значимих порівняно з контролем змін концентрації в крові загального білка та альбуміну (таблиця). Разом із цим у щурів 1 і 2 груп були виявлені статистично значимі ($p < 0,05$) порівняно з контролем зміни показників концентрації сечової кислоти та креатиніну (таблиця), які вказують на порушення в організмі процесів обміну низькомолекулярних азотистих речовин, представлених кінцевими продуктами обміну білків і нуклеїнових кислот.

Аналіз даних вмісту креатиніну в сироватці крові показав, що значення цього показника в щурів 1 групи значимо не відрізнялися від щурів 2 групи (таблиця). Натомість, показник концентрації сечової кислоти в крові щурів 1 групи значимо ($p < 0,05$) відрізнявся від щурів 2 групи (таблиця), що, з одного боку, свідчить про пригнічення процесів синтезу креатиніну, які розпочинаються в нирках і завершуються в печінці, а, з другого боку, – про порушення процесів обміну пуринів і екскреції нирками сечової кислоти. У цьому разі більші за розміром НЧОЗ проявляють більшу здатність впливати на процеси екскреції сечової кислоти порівняно з меншими НЧОЗ.

При вивченні біохімічних показників, що є маркерами обміну ліпідів, зокрема, змін концентрації холестерину в крові тварин обох дослідних груп порівняно з контрольною виявлено не було (таблиця). Разом із цим у щурів 1 групи, які зазнавали тривалої дії на організм НЧ Fe₂O₃ розміром 19 нм були відмічені значимі зміни концентрації в крові тригліцеридів ($p < 0,05$; таблиця) порівняно з контролем. Такі зміни можуть вказувати на те, що більш дрібні за розміром НЧ Fe₂O₃ здатні впливати на обмін нейтральних жирів, що необхідно враховувати при плануванні та проведенні експериментальних досліджень щодо оцінки кардіовазотоксичної дії НЧОЗ.

Таблиця

Біохімічні показники крові в щурів різних експериментальних груп

Біохімічний показник	Група					
	контроль		група I (НЧ Fe ₂ O ₃ – 19 нм)		група 2 (НЧ Fe ₂ O ₃ – 75 нм)	
	min max	Me (25 % – 75 %)	min max	Me (25 % – 75 %)	min max	Me (25 % – 75 %)
Аспаргатаміно- трансфераза, ОД/л	138,0 228,0	180,0 (168,0–190,0)	213,0 471,0	275,0* (244,0–395,3)	234,0 369,0	328,0*. [#] (272,2–348,5)
Аланінаміно- трансфераза, ОД/л	40,0 74,0	50,0 (48,0–70,0)	64,0 83,0	81,0* (70,0–82,0)	56,0 92,0	89,0* (67,5–90,5)
Лужна фосфатаза, ОД/л	190,0 220,0	200,0 (196,0–220,0)	560,0 610,0	600,0* (575,0–605,0)	571,0 700,0	614,0*. [#] (592,5–664,2)
Сечова кислота, моль/л	74,0 89,0	83,0 (75,0–89,0)	84,0 264,0	137,0* (110,5–212,8)	146,0 207,0	193,0*. [#] (164,0–200,0)
Загальний білок, г/л	70,0 79,4	70,4 (70,4–78,1)	70,4 76,3	72,6 (71,5–74,7)	68,3 75,9	72,6 (70,3–74,3)
Альбумін, г/л	32,0 40,0	36,0 (34,0–39,0)	35,9 37,4	37,0 (36,3–37,2)	35,3 39,4	38,5 (36,5–38,9)
Креатинін, моль/л	57,0 66,0	60,0 (60,0–65,0)	30,0 38,0	33,0* (31,5–35,8)	34,0 37,0	36,0* (34,8–36,5)
Холестерин, моль/л	1,20 1,38	1,23 (1,20–1,38)	1,10 1,59	1,23 (1,16–1,45)	1,02 1,65	1,37 (1,18–1,51)
Тригліцериди, моль/л	0,51 0,86	0,70 (0,64–0,84)	0,92 0,98	0,96* (0,94–0,97)	0,06 1,06	0,76 [#] (0,30–0,91)
α-амілаза, ОД/л	57,0 70,8	67,5 (67,0–68,5)	69,1 99,7	80,2* (74,6–91,3)	58,7 87,3	83,5*. [#] (67,6–85,4)
Глюкоза, ммоль/л	3,60 5,00	4,50 (3,60–4,90)	3,00 4,40	3,90* (3,38–4,15)	4,20 5,00	4,20 [#] (4,20–4,73)

Примітка: **р* < 0,05 порівняно з контролем; [#]*р* < 0,05 порівняно з групою I.

Біохімічні дослідження з вивчення впливу різних за розміром НЧ Fe₂O₃ на стан вуглеводного обміну за показниками концентрації в крові глюкози та активності ферменту α-амілази показали, що в усіх групах піддослідних щурів (1 група і 2 група) виявлялися значимі зміни показника активності α-амілази порівняно з контролем (*р* < 0,05) (таблиця) Разом із цим значимі (*р* < 0,05) порівняно з контролем зміни концентрації глюкози в крові були визначені лише в 1 групі щурів, які зазнавали тривалого впливу на організм менших за розміром НЧОЗ (19 нм; таблиця). Це зумовлювало значимі (*р* < 0,05) відмінності показника концентрації глюкози в крові у 2 групи порівняно зі щурами 1 групи, що може бути свідченням відмінностей в ефектах і механізмах токсичної дії різних за розміром НЧ Fe₂O₃ на інсулоцити панкреатичних островців (ПО) ПЗ.

Таким чином результати біохімічних досліджень є підставою для проведення морфологічних досліджень з метою оцінки структурно-функціональних змін в органах-мішенях щурів за тривалого впливу на організм різних за розміром НЧ Fe₂O₃.

У ході морфологічних досліджень у міокарді лівого шлуночка серця щурів (рис. 1), які зазнавали тривалої дії на організм НЧ Fe₂O₃ із середнім розміром частинок 19 нм були виявлені вогнища інтерстиціального набряку та білкової дистрофії кардіоцитів, які проявлялися накопиченням у саркоплазмі білкових включень, що склалися з багатих на аміні групи «кислих» білків і були асоційовані з дрібними кристалоподібними включеннями. Фізико-хімічні властивості таких включень були визначені за результатами фарбування гістологічних препаратів за методом MSB, у ході якого «кислі» білки в разі взаємодії з кислим барвником

азофлосин (Azophloxine; Acid Red 1) забарвлювалися в характерний для них яскраво-червоний колір (рис. 1 б, в). Разом із цим асоціацію «кислих» білків з кристалоподібними включеннями визначали за характерною для них позитивною анізотропною реакцією при мікроскопічному дослідженні в поляризованому світлі.

Необхідно відмітити, що вплив НЧ Fe_2O_3 розміром 19 нм часто супроводжувався гіперплазією та гіпертрофією фіброblastів, розташованих у сполучено-тканинній стромі, а в їхніх ядрах виявляли дрібні кристалоподібні включення (рис. 1 б), що вказує на високий рівень тропізму дрібних за розміром НЧОЗ до хроматину в ядрах функціонально активних клітин. В окремих випадках аналогічні включення виявляли в ядрах поодиноких кардіоміоцитів, що може вказувати на здатність дрібних за розміром НЧОЗ до транслокації в ядро клітин.

При дії НЧ Fe_2O_3 розміром 19 нм не всі кардіоміоцити в міокарді лівого шлуночка серця зазнавали деструктивних змін. В окремих з них відмічали

гіпертрофію цитоплазми та ядра, що вказує на розвиток у міокарді структурних перебудов, спрямованих на компенсацію частково втрачених функцій і підтримку тканинного гомеостазу.

При гістологічному дослідженні міокарда лівого шлуночка серця щурів, які зазнавали тривалого впливу на організм НЧ Fe_2O_3 розміром 75 нм, були виявлені вогнища інтерстиціального та периваскулярного набряку, що формувалися на фоні помітного розширення просвітів вен і капілярів (рис. 1 в). Разом із цим також відмічали дистонічні зміни капілярів, що визначалися за чергуванням ділянок судин із паретично розширеними та спазматично звуженими просвітами, в яких спостерігали стаз і феномен сладжу еритроцитів, а також пристінкові тромби та згортки, які склалися з «молодого» фібрину, який за методом MSB фарбувався в яскраво помаранчево-червоний колір (рис. 1 г). У розширених просвітах капілярів у складі рідкої крові, фібринових тромбів і згортків, а також еритроцитів часто виявляли агрегати та агломерати дрібних частинок (рис. 1 г), які в поляризованому

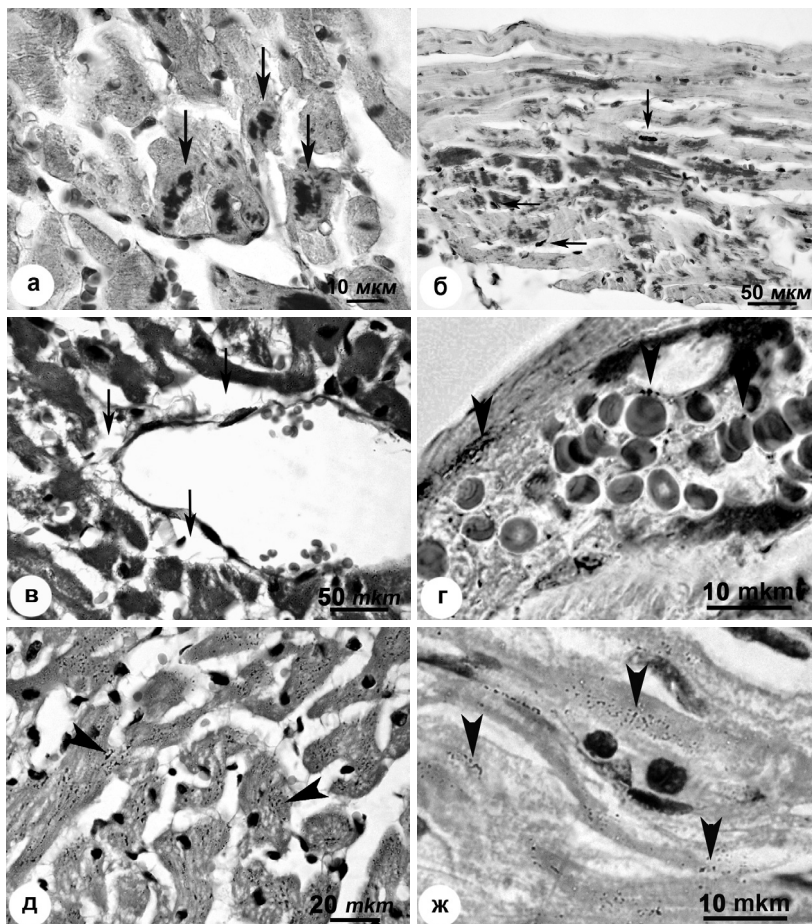


Рис. 1. Гістологічні зміни в міокарді лівого шлуночка серця щурів за тривалого впливу наночастинок Fe_2O_3 розміром 19 нм (а, б) і 75 нм (в, г, д, ж)

Примітка. Включення «кислих» білків у кардіоміоцитах (а) і кристалоподібних структур у ядрах фіброblastів з ознаками гіпертрофії (б); вогнища підендотеліального набряку кровоносних капілярів (в); пристінкові фібринові згортки яскраво помаранчево-червоного кольору та кристалоподібні включення (▼) у цитоплазмі ендотеліоцитів і в структурі мембран еритроцитів (г); дистрофічні зміни кардіоміоцитів з дрібними кристалоподібними включеннями (▼) у саркоплазмі (д, ж). Гематоксилін і еозин (в, д, ж), метод MSB (а, б, г).

світлі виявляли позитивну анізотропну реакцію. Нерідко скупчення таких оптично активних кристалоподібних включень виявляли в цитоплазмі ендотеліоцитів, які формують стінку капілярів, а також у розширених підендотеліальних просторах, що визначає розвиток порушень у структурі гематоканинного бар'єра.

Слід зазначити, що за таких умов у міокарді часто спостерігали дистрофічні зміни кардіоміоцитів, що проявлялися набряком їхньої саркоплазми і розпадом міофібрил на дрібні фрагменти (рис. 1 д), а також накопиченням у саркоплазмі кардіоміоцитів «кислих» білків, асоційованих з дрібними кристалоподібними включеннями. Також дистрофічні зміни кардіоміоцитів проявлялися ущільненням саркоплазми та пікнозом ядра (рис. 1 ж).

Таким чином, результати проведених гістологічних, гістохімічних і поляризаційно-мікроскопічних досліджень дають підстави дійти висновку про те, що тривалий вплив на організм щурів Fe_2O_3 у формі НЧ розміром 19 нм і 75 нм викликає розвиток у міокарді лівого шлуночка серця щурів ряд

характерних і однотипних, але часто різних за проявами морфологічних змін, які характеризують ефекти кардіовазотоксичної дії НЧОЗ.

Гістологічні дослідження печінки щурів, які зазнавали тривалої дії на організм різних за розміром НЧ Fe_2O_3 (рис. 2), показали, що за спектром, характером і своєю вираженістю морфологічні зміни в органі щурів 1 групи значимо не відрізнялися від морфологічних змін в органі щурів 2 групи.

В обох групах щурів у печінці виявили помірне розширення та повнокров'я синусоїдних капілярів, що часто супроводжувалося гіперплазією та гіпертрофією зірчастих макрофагоцитів (клітин Купфера). Також у паренхімі органа часто виявляли дистрофічні зміни гепатоцитів у вигляді просвітлення та вакуолізації цитоплазми, її надмірної зернистості, або ущільнення, яке супроводжувалося надмірною базофілією та пікнозом ядра внаслідок конденсації хроматину (рис. 2 а). На такому фоні в паренхімі органа спостерігали утворення дрібних вогнищ лімфоцитарної інфільтрації (рис. 2 б), а в

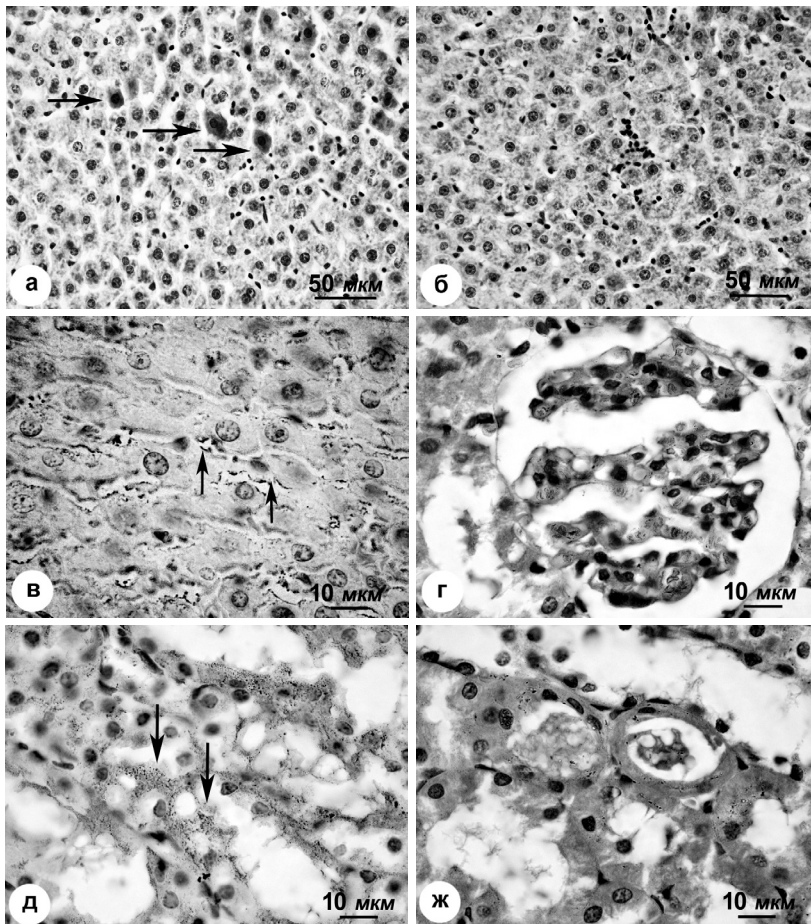


Рис. 2. Гістологічні зміни в печінці (а, б, в) і нирках (г, д, ж) щурів за тривалого впливу наночастинок Fe_2O_3 розміром 19 нм

Примітка. а) – Дистрофічні зміни гепатоцитів (→); б) – дрібні лімфоцитарні інфільтрати; в) – гранулярні преципітати сполук Fe^{+2} у розширених просвітах синусоїдних капілярів (↑); г) – розширення просвіту капсули ниркового тільця; д) – дистрофічні зміни епітелію проксимальних канальців з дрібними кристалоподібними включеннями в цитоплазмі (↓); ж) – пухккі, аморфні білкові маси в просвітах дистальних канальців. Гематоксилін і еозин (а, б, г, д, ж); гістохімічна реакція Перлса (в).

окремих випадках — формування дрібних лімфомакрофагальних гранульом по типу іноридних тіл, які склалися з макрофагів із щільною, часто заповненою дрібними включеннями цитоплазмою, та лімфоцитів, розташованих навколо макрофагів у вигляді неширокого валу. Також у печінці тварин спостерігали значне збільшення питомої кількості двоядерних гепатоцитів і клітин з гіпертрофією цитоплазми та ядра порівняно з контролем, що може бути свідченням компенсаторно-приспосувальних перебудов, які відбуваються в органі на клітинному рівні, що спрямовані на підтримку тканинного гомеостазу в умовах зниження його надійності.

У ході гістохімічних досліджень (реакція Перлса) у центральних зонах печінкових часточок, у розширених просвітах синусоїдних капілярів і просторах Діссе часто виявляли преципітати дрібних аморфних гранул, блакитно-синього кольору (рис. 2 в), що характерно для сполук Fe^{+2} . Нерідко такі включення виявляли в цитоплазмі зірчастих макрофагоцитів, що давало підстави розцінювати ці гістохімічні зміни як порушення обміну заліза в гепатоцитах.

Підсумовуючи результати морфологічних досліджень печінки щурів 1 групи та 2 групи необхідно відмітити, що тривалий вплив на організм різних за розміром НЧ Fe_2O_3 супроводжується розвитком дистрофії гепатоцитів, а також формуванню в паренхімі органа дрібних лімфомакрофагальних гранульом, по типу іноридних тіл, що може вказувати на гепатотоксичну дію різних за розміром НЧ Fe_2O_3 . При цьому вплив НЧ Fe_2O_3 розміром 75 нм на морфологічні зміни в печінці щурів (група 2) за спектром, характером і своєю вираженістю значимо не відрізнялися від змін, виявлених у щурів 1 групи.

При гістологічному дослідженні нирок встановлено, що тривалий вплив НЧ Fe_2O_3 розміром 19 нм і 75 нм викликав однакові за морфологічними проявами зміни в корковій і мозковій речовині органа. Так, у корковій речовині органа за дії різних за розміром НЧОЗ відмічали розширення просвітів капсул ниркових тілець і капілярів ниркових клубочків, переважно юкстамедулярних нефронів (рис. 2 г), що може бути свідченням збільшення процесів клубочкової фільтрації. Разом із цим у мозковій речовині нирок за дії НЧОЗ виявляли збільшення лінійних розмірів проксимальних і дистальних каналців, розширення їхніх просвітів, а також дис-

трофічні зміни епітелію, переважно проксимальних каналців у вигляді їхньої зернистої та білкової дистрофії, нерідко з відкладенням у їхній цитоплазмі дрібних кристалоподібних включень (рис. 2 д). При цьому в розширених просвітах дистальних каналців і збиральних трубочок часто спостерігали скупчення пухких, ацидофільних білкових мас, у складі яких виявляли агрегати та агломерати дрібних кристалоподібних включень (рис. 2 ж).

Отже, тривалий вплив на організм щурів різних за розміром НЧ Fe_2O_3 викликав розвиток у нирках тварин так званих «мінімальних змін ниркових клубочків», які за морфологічними характеристиками були ідентичними в щурів групи 1 і групи 2 та вказували на збільшення в нирках клубочкової фільтрації. Разом із цим дія різних за розміром НЧ Fe_2O_3 призводила до пошкодження структури каналцевого апарату нирок, переважно проксимального відділку нефрона, що кореспондується з даними проведених біохімічних досліджень. При цьому результати гістологічних досліджень нирок на відміну від досліджень біохімічних маркерів функціонального стану нирок не виявили будь-яких значимих відмінностей в ефектах нефротоксичної дії різних за розміром НЧ Fe_2O_3 .

При гістологічному дослідженні ПЗ щурів, які зазнавали впливу НЧ Fe_2O_3 розміром 19 нм і 75 нм, в екзокринній частині залози було виявлено повнокров'я дрібних артерій, вен і капілярів, помірний набряк сполучено-тканинної строми органа, а також дистрофічні зміни ацинарних клітин (рис. 3). Це призводило до зменшення в апікальній цитоплазмі клітин кількості зимогенних гранул порівняно з контролем, що вказує на розвиток порушень секреторної функції клітин (рис. 3 а).

Дослідження ендокринної частини ПЗ, представленої нерівномірно розсіяними в екзокринній тканині залози ПО, які складаються з інсулоцитів зі світлою цитоплазмою і розташовуються навколо кровоносних капілярів, що формують у ПО густу капілярну сітку, виявили морфологічні зміни, які характеризують відмінності в ефектах токсичної дії різних за розміром НЧ Fe_2O_3 на ПЗ. Так, було встановлено, що тривалий вплив дрібних за розміром НЧ Fe_2O_3 (19 нм) призводив до виражених дистрофічних змін інсулоцитів у вигляді набряку їх цитоплазми та базофільії ядра, що розвивалися на фоні розширення та запуснення просвітів кровоносних капілярів (рис. 3 а). При цьому за допомогою гістохімічного методу Гоморі в більшості ПО було

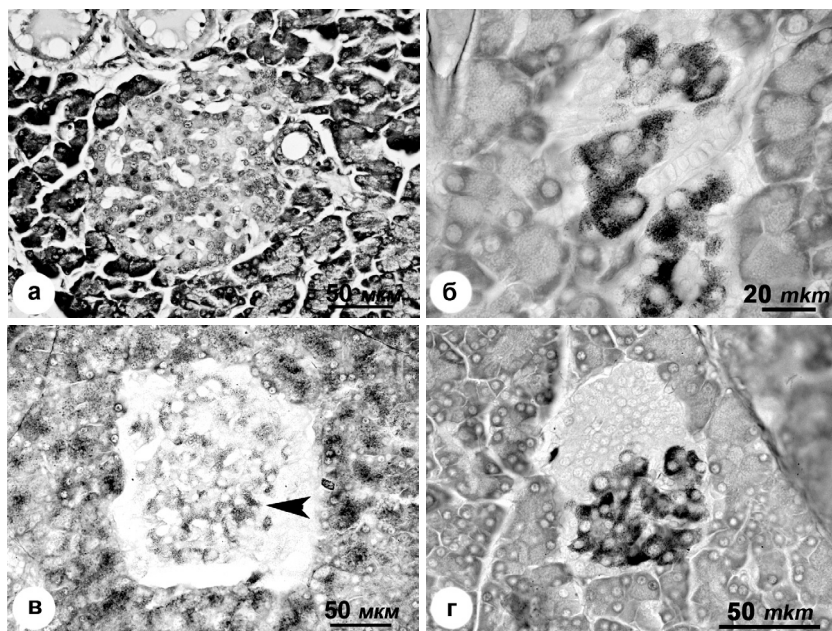


Рис. 3. Гістологічні та гістохімічні зміни в панкреатичних острівцях підшлункової залози щурів за тривалого впливу наночастинок Fe_2O_3 розміром 19 нм (а, б, в) і 75 нм (з)

Примітка. а) Розширення та запусніння просвітів кровоносних капілярів у ПО і дистрофічні зміни інсулоцитів; б) – А-Ф позитивні гранули в цитоплазмі інсулоцитів; в, з) – зменшення в ПО кількості інсулоцитів з А-Ф позитивними секреторними гранулами в цитоплазмі (◄). Гематоксилін і еозин (а); фарбування альдегід-фуксином (А-Ф) за методом Гоморі (б, в, з).

виявлено суттєве зменшення кількості інсулоцитів з альдегід-фуксин (А-Ф) позитивними секреторними гранулами в цитоплазмі порівняно з контролем (рис. 3 б, в), кількісний вміст яких у цитоплазмі дозволяє провести оцінку функціонального стану клітин, пов'язаного з синтезом і секрецією інсуліну.

У щурів 2 групи також виявляли зменшення кількості інсулоцитів з А-Ф позитивними секреторними гранулами в цитоплазмі порівняно з контролем у ПО ПЗ. Разом із цим кількість А-Ф позитивних секреторних гранул у цитоплазмі інсулоцитів ПО у щурів 2 групи значно перевищував кількість таких гранул у щурів 1 групи (рис. 3 г). Це кореспондується з результатами біохімічних досліджень показника концентрації глюкози в крові підслідних щурів групи 1 і групи 2, які так само виявили відмінності в ефектах дії різних за розміром НЧ Fe_2O_3 на вуглеводний обмін в організмі (таблиця).

Результати гістологічних і гістохімічних досліджень ПЗ щурів показали, що тривалий вплив на організм різних за розміром НЧ Fe_2O_3 викликає розвиток порушень в обміні вуглеводів унаслідок змін структурно-функціонального стану інсулоцитів, які визначають порушення в клітинах і зміни їхньої секреторної функції.

Таким чином, отримані результати дослідження кореспондують з даними інших авторів [14], які показали, що токсична дія НЧ золота може викликати ураження печінки, нирок та інших життєвоважливих органів і систем підслідних тварин. Ураження

печінки за впливу НЧ Fe_2O_3 можуть протікати з порушенням антитоксичної, метаболічної функцій та порушенням обмінних процесів (вуглеводного, білкового і ліпідного) [15].

Висновки

1. Колоїдні розчини НЧ Fe_2O_3 розміром 19 нм і 75 нм у разі тривалого введення в черевну порожнину щурів справляли токсичну дію на органи-мішені (серце, печінка, нирки, ПЗ), про що свідчили наявні дистрофічні та некробіотичні зміни у клітинах цих органів та порушення в них метаболічних процесів.
2. Встановлені зміни біохімічних показників (підвищена активність внутрішньоклітинних ферментів АСТ, АЛТ, ЛФ, порушення білкового, ліпідного та вуглеводного обмінів) свідчать про токсичне ураження клітин печінки, ПЗ, серця. Більш виражені зміни всіх показників мали місце у тварин, яким вводили НЧ Fe_2O_3 розміром 19 нм, що вказує на їхню більшу біологічну та токсичну активність.
3. При гістологічному дослідженні міокарда визначено порушення кровообігу в системі мікроциркуляторного русла, про що свідчить стаз крові у просвітах капілярів і вен, зумовлений сладжем еритроцитів і формуванням «монетних» стовпчиків і невеликих пристіночних тромбів, в яких виявлялися дрібні кристалоподібні вclusions.

- Накопичення їх у цитоплазмі кардіоміоцитів сприяло посиленню деструктивних порушень у ядрах клітин, про що свідчили надмірна базофілія, зумовлена конденсацією хроматину. Ці морфологічні зміни більш характерні за дії НЧ Fe_2O_3 розміром 75 нм, що може визначати їхню активну здатність до взаємодії з біосубстратами.
- Ефект гепатотоксичної дії визначався дистрофічними та некротичними змінами клітин (некроз та апоптоз), на що вказує формування в паренхімі органа лімфомакрофагальних гранульом по типу гранульом іноридних тіл. Ці зміни відбувалися на фоні накопичення в цитоплазмі клітин дрібних кристалоподібних включень і порушення обміну заліза. Особливості ефекту гепатотоксичної дії НЧ Fe_2O_3 не мали залежності від їхнього розміру.
 - Вплив НЧ Fe_2O_3 обох розмірів на нирки дослідних щурів спричиняв морфологічні зміни в клубочковому апараті (повнокров'я, розширення просвітів капілярів), що вказує на порушення

- активності процесів клубочкової фільтрації. Зміни в каналцевому апараті (збільшення лінійних розмірів проксимальних і дистальних каналців, зерниста дистрофія цитоплазми епітелію проксимальних каналців, наявність у просвітах дистальних каналців і збиральних трубочок пухких ацидофільних білкових) свідчать про порушення каналцевої реабсорбції. Відмінності нефротоксичної дії НЧ Fe_2O_3 різних розмірів при гістологічному дослідженні не встановлені.
- Встановлено, що оксид заліза у формі наночастинок проявляє ефект токсичної дії на ендокринний апарат ПЗ. Спільним проявом токсичної дії наночастинок різних розмірів є їхня здатність пригнічувати секреторну активність клітин ендокринного та екзокринного апаратів. Відмінності їхньої токсичної дії визначаються виключно «силою» ефекту. Пригнічення активності інсулоцитів ПО ПЗ більш притаманне наночастинкам меншого розміру (19 нм).

Література

- Трахтенберг І. М., Дмитруха Н. М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості. *Український журнал з проблем медицини праці*. 2013. № 4 (37). С. 62–74.
- Yokel R. A., Macphail R. C. Engineered nanomaterials: exposures, hazards, and risk prevention. *J. Occup. Med. Toxicol.* №6. P. 7–13. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-6-7>.
- Zeng H., Sun S. Syntheses, properties, and potential applications of multicomponent magnetic nanoparticles. *Advanced Functional Materials*. 2008. Vol. 18 (3). P. 391–400. <https://doi.org/10.1002/adfm.200701211>.
- Фізико-хімічні, фармако-токсикологічні та протипухлинні властивості феромагнітних наночастинок заліза (експериментальні дослідження). В. С. Мосієнко, Н. Ф. Кушєвська, А. П. Бурлака та ін. *Онкологія*. 2012. № 14 (1). С. 13–18.
- Лубянова І. П. Избыточное железо и патология у рабочих сварочных профессий. Киев : ВД «Авіцена», 2013. 240 с.
- Лубянова І. П. Современные представления о метаболизме железа с позиции профпатолога. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2010. № 2. С. 47–57.
- Ramm G. A., Ruddell R. G. Hepatotoxicity of iron overload mechanisms: pf iron-induced hepatic fibrogenesis. *Seminars in liver disease*. 2005. Vol. 25 (4). С. 433–449. <https://doi.org/10.1055/s-2005-923315>.
- Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity. R. Weissleder, D. D. Stark, B. L. Engelstad et

al. *AJR Am. J. Roentgenol.* 1998. Vol. 152 (1). P. 167–173. <https://doi.org/10.2214/ajr.152.1.167>.

9. Экспериментальные данные к оценке пульмоно-токсичности и резорбтивной токсичности частиц магнетита (Fe_3O_4) нано- и микрометрового диапазона. Б. А. Канцельсон, Л. И. Привалова, С. В. Кузьмин и др. *Токсикологический вестник*. 2010. № 2. С. 17–24.

10. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, Н. Є. Болдирєва та ін. Київ : Інтерсервіс. 2017. 182 с.

11. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasburg, 1986. 53 p.

12. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Л. В. Беркало, О. В. Бобович, Н. О. Боброва та ін.; за ред. І. П. Кайдашева. Полтава : Полімет, 2003. 320 с.

13. Саркисов Д. С., Петров Ю. Л. Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов. Москва : Медицина, 1996. 427 с.

14. Сулейманова Л. В. Морфологические изменения органов и тканей экспериментальных животных при воздействии наночастиц золота: автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук; 14.0015. Саратов, 2009. 24 с.

15. Накопичення заліза в печінці та зміни біохімічних показників сироватки крові щурів за введення колоїдних розчинів Fe_2O_3 з різними розмірами частинок. Л. В. Бакало, Н. М. Дмитруха, І. М. Андрушишина та ін. *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки*. 2017. № 3 (78). С. 48–55.

Луговской С. П., Дмитруха Н. Н., Диденко М. Н., Бакало Л. В., Лагутина О. С., Мельник Н. А.
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС
ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ В БРЮШНУЮ ПОЛОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА
ЖЕЛЕЗА (Fe₂O₃)

Государственное учреждение «Институт медицины труда имени Ю. И. Кундиева Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Введение. Среди наночастиц (НЧ) металлов НЧ оксидов железа (НЧОЗ) имеют особое значение, поскольку широко используются в сельском хозяйстве, медицине и фармацевтике. Экспозиция НЧОЗ может происходить на этапе их производства, применения и утилизации, а также при особых условиях на предприятиях цветной и черной металлургии, при выполнении различных операций по выплавке металла, резки и сварки металлических конструкций. Обладая высокой биологической активностью НЧОЗ до сих пор остаются недостаточно изученными в отношении их воздействия на различные органы и системы организма.

Цель исследования – определение морфофункциональных изменений во внутренних органах крыс при длительном введении в брюшину коллоидных растворов НЧ Fe₂O₃, зависимости их от размера и концентрации НЧ.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на 24 крысах-самцах Вистар массой 150–180 г, разделенных на 3 группы: 1 контрольную и 2 опытных. В эксперименте были использованы коллоиды оксида железа (Fe₂O₃) со средним размером НЧ 19 нм и 75 нм. Коллоидные растворы вводили в брюшную полость (5 дней в неделю), всего 30 введений. Выполнены морфологические исследования внутренних органов (сердце, печень, почки, поджелудочная железа) с использованием общепринятых и специальных гистологических и гистохимических методик, а также определены биохимические показатели, характеризующие функциональное состояние печени, почек, липидный, углеводный и белковый обмены с помощью биохимического анализатора VITLAB FLEXOR E (Нидерланды) и стандартных тест-наборов Elitech (Франция).

Результаты. Установлено, что длительное введение в брюшную полость крыс НЧ Fe₂O₃ сопровождается накоплением в цитоплазме кардиомиоцитов, гепатоцитов и клеток нефротелия мелких кристаллоподобных включений. Это свидетельствует об аккумуляции НЧ Fe₂O₃ в органах-мишенях, что приводит к дистрофическим и некробиотическим процессам в клетках и определяет эффект токсического действия. Кардио-вазотоксическое действие НЧ Fe₂O₃ проявлялось нарушением кровообращения в системе микроциркуляторного русла, о чем свидетельствует стаз крови в просветах капилляров и вен. Поражение печени протекало с нарушением антиоксидантной и метаболической функций, а также обменных процессов. Более выраженные изменения всех показателей имели место у животных, которым вводили НЧ Fe₂O₃ 19 нм, что указывает на их большую биологическую и токсическую активность. Влияние НЧ Fe₂O₃ обоих размеров на почки крыс сопровождалось полнокровием капилляров почечных клубочков, расширением просветов капсулы почечного тельца и зернистой дистрофией клеток проксимального эпителия, что свидетельствует о нарушении процессов клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции. В поджелудочной железе эффект токсического действия характеризовался нарушением кровообращения и дистрофическими изменениями ацинарных клеток и инсулоцитов поджелудочных островков, характеризующийся снижением их функциональной активности, более характерной для НЧ Fe₂O₃ 19 нм.

Выводы. Наночастицы Fe₂O₃ при длительном введении в брюшную полость крыс аккумулируются в органах-мишенях (сердце, печень, почки) и вызывают в них широкий спектр структурных и функциональных изменений, которые свидетельствуют об их кардио-вазотоксическом, гепатотоксическом и нефротоксическом действии.

Ключевые слова: наночастицы оксида железа Fe₂O₃, печень, почки, поджелудочная железа, сердце, обменные процессы

Lugovskiy S. P., Dmitruha N. N., Didenko M. N., Bakalo L. V., Lagutina O. S., Melnik N. A.

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES IN INTERNAL ORGANS OF RATS IN LONG-TERM
ADMINISTRATION OF IRON OXIDE NANOPARTICLES INTO ABDOMINAL CAVITY

State Institution «Kundiev Institute of Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Introduction. Among metal nanoparticles (NPs), nanoparticles of iron oxides (NPIO) take a special place as they are widely used in agriculture, medicine and pharmacy. The exposure to NPIO can occur at the stage of production, use and disposal as well as in special conditions at enterprises of ferrous and non-ferrous metallurgy, while cutting and welding metal constructions. Taking into account high biological activity of NPIO, the nature of their influence on different organs and systems of the body is not still well studied.

The purpose of the study is to determine morpho-functional changes in the internal organs of rats (heart, liver, kidneys, pancreas) under a long-term administration of NPs of iron oxide (Fe₂O₃) of different size into peritoneum.

Materials and methods. The study was conducted on 24 Wistar male rats of 150–180 g body weight, divided into 3 groups: 1 control and 2 experimental groups. Colloidal solutions of Fe_2O_3 with NPs of 19 nm and 75 nm were used in the experiment. The solutions were administered into abdominal cavity for 5 days a week. Morphological studies of the internal organs (heart, liver, kidneys, pancreas) were conducted using standard and special histological and histochemical methods. Also, biochemical indices, characterizing the functional state of liver, kidneys as well as lipid, carbohydrate and protein metabolism were determined, using a biochemical analyzer VITLAB FLEXOR E (The Netherlands) and standard test kits Elitech (France).

Results. It has been established that the prolonged administration of Fe_2O_3 NPs into abdominal cavity of rats is accompanied by accumulation of small crystal-like inclusions in the cytoplasm of cardiomyocytes, hepatocytes, and cells of nephrothelium. This points to cumulation of Fe_2O_3 NPs in the target organs which causes dystrophic and necrobiotic processes in cells, demonstrating a toxic effect. The cardio-vasotoxic effect of Fe_2O_3 NPs was manifested by the disorder of the blood circulation in the microvasculature channel, as evidenced by the blood stasis in the capillary and vein lumens. Liver damages were manifested by disorders in antitoxic and metabolic functions, and metabolic processes. More pronounced changes in all parameters occurred in animals exposed to Fe_2O_3 NPs with 19 nm, indicating their great toxicity. The effect of Fe_2O_3 NPs of both sizes on kidneys of experimental rats was accompanied by the plenipotentiary of capillaries of renal glomeruli, expansion of lumens of the renal capsule and granular dystrophy of cells of the proximal epithelium, pointing to disorders of processes of the glomerular filtration and tubular reabsorption. In the pancreas, the toxic effect was manifested by disorders in the blood circulation and dystrophic changes in acinar cells and insulocites of pancreatic islands, showing the decrease in their functional activity, more characteristic for NPs of 19 nm.

Conclusion. Nanoparticles of Fe_2O_3 , under in long-term administration into the abdominal cavity of rats, are cumulated in the target organs (heart, liver, kidneys) and cause in them a wide range of structural and functional changes, indicating their cardiovascular, hepatotoxic and nephrotoxic effects.

Key words: NPs of Fe_2O_3 , liver, kidneys, pancreas, heart, metabolic processes

References

1. Trakhtenberg I. M., Dmytrukha N. M. (2013), «Nanoparticles of metals, methods of definition, spheres of use, physicochemical and toxic properties», *Ukrainian Journal of Occupational Health*, 4 (37), 62–74.
2. Yokel R. A., Macphail R. C. (2011) «Engineered nanomaterials: exposures, hazards, and risk prevention», *J. Occup. Med. Toxicol.*, 6, 7–13. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-6-7>.
3. Zeng H., Sun S. (2008), «Syntheses, properties, and potential applications of multicomponent magnetic nanoparticles», *Advanced Functional Materials.*, 18 (3), 391–400. <https://doi.org/10.1002/adfm.200701211>.
4. Mosienko V. S., Kushchevska N. F., Burlaka A. P. et al. (2012), «Physico-chemical, pharmacotoxicological and antitumor properties of ferromagnetic iron nanoparticles (Experimental studies)», *Onkologia*, 14 (1), 13–18.
5. Lubyanova I. P. (2013), *Izbytochnoye zhelezo i patologiya u robochikh svarochnykh professiy* [Excessive iron and pathology in workers of welding professions]. Kiev : Avicenna, Ukraine.
6. Lubyanova I. P. (2010), «Modern ideas on iron metabolism from the point of view of an occupational pathologist», *Aktualni problem transportnoi meditsyny*, 2, 47–57.
7. Ramm G. A., Ruddell R. G. (2005), «Hepatotoxicity of iron overload mechanisms: iron-induced hepatic fibrogenesis», *Seminars in liver diseases.*, 25 (4), 433–449. <https://doi.org/10.1055/s-2005-923315>.
8. Weissleder R., Stark D. D., Engelstad B. L. (1998), «Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity», *Am. J. Roentgenol.*, 152 (1), 167–173. <https://doi.org/10.2214/ajr.152.1.167>.
9. Katsnelson B. A., Privalova L. I., Kuzmin S. V. et al. (2010), «Experimental data on the assessment of pulmonotoxicity and resorptive toxicity of magnetite particles (Fe_3O_4) of the nano- and micrometer range», *Toksikologicheskij vestnik*, 2, 17–24.
10. Kozhemyakin Yu. M., Khromov O. S., Boldyreva N. E. et al. (2017), *Naukovo-praktychni rekomendatsii z utrymannya laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy* [Scientific-practical recommendations on keeping laboratory animals and work with them]. Kyiv : Inter-servis, Ukraine.
11. European Convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes, 1986. Council of Europe, Strasbourg.
12. Berkalo L. V., Bobovich O. V., Bobrova N. O. (2003), *Metody klinichnykh ta eksperymentalnykh doslidzhen v medytsyni* [Methods of clinical and experimental research in medicine]. (ed. Kaideshev I.P.), Poltava : Polimet, Ukraine.
13. Sarkisov D. S., Petrov Yu. L. (1996), *Mikroskopicheskaya tekhnika: Rukovodstvo dlya vrachey i laborantov* [Microscopic technique: A guide for doctors and laboratory technicians]. Moscow : Meditsina, Russia.
14. Suleymanova L. V. (2009), *Morphological changes in organs and tissues of experimental animals when exposed to gold nanoparticles*, Author's abstract, dissertation, cand. med. sci. Saratov : Sciences, Russia.
15. Bakalo L. V., Dmitrukha N. M., Andrusishina I. M. et al. (2017), «Cumulation of iron in the liver and changes in the biochemical parameters of blood serum in rats while administration of colloidal solutions of Fe_2O_3 of different particle size», *Suchasni problemy toksikologii, kharchovoi i khimichnoi bezpeky*, 78 (3), 48–55.

ORCID ID співавторів та їхній внесок у підготовку та написання статті:

Луговський С. П. (ORCID ID 0000-0002-3948-7026) – аналіз результатів дослідження, формулювання висновків;
Дмитруха Н. М. (ORCID ID 0000-0001-9161-3889) – аналіз результатів дослідження, формулювання висновків,
підготовка матеріалу до друку;

Діденко М. М. (ORCID ID 0000-0002-2540-2685) – виконання гістологічних досліджень та аналіз результатів,
підготовка матеріалу до друку;

Бакало Л. В. (ORCID ID 0000-0003-3295-8937) – виконання експериментальних біохімічних і гістологічних
досліджень;

Лагутіна О. С. (ORCID ID 0000-0003-0723-1293) – виконання експериментальних біохімічних досліджень,
проведення статистичної обробки даних;

Мельник Н. А. (ORCID ID 0000-0003-1271-4476) – виконання експериментальних гістологічних досліджень,
підготовка матеріалу до друку.

Інформація щодо джерел фінансування дослідження: дослідження виконано за темами: «Наукове обґрунтування принципів, методів і показників експериментальної оцінки токсичності наночастинок і наноматеріалів (на прикладі важких металів)», № ДР 0113U001447; «Морфофункціональна оцінка органотропності та тканинного розподілу наночастинок металів у залежності від їх дисперсності та шляхів надходження в організм», № ДР 0114U002409.

Надійшла: 18 червня 2019 р.

Прийнята до друку: 1 серпня 2019 р.

Контактна особа: Дмитруха Наталія Миколаївна, доктор біологічних наук, лабораторія промислової токсикології і гігієни праці при використанні хімічних речовин, ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва НАМНУ», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 44 289 51 85.