
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА СИНТЕТИЧЕСКОГО
И БИОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ
ПАРАМЕТРЫ ПОЧКИ МЫШЕЙ**

© 2025 г. А. В. Киреева¹, О. А. Коленчукова^{2,4}, Е. А. Бирюкова^{2,*}, С. В. Столяр^{1,3}

¹*Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук,
Красноярск, Россия*

²*Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук,
обособленное подразделение “Научно-исследовательский институт
медицинских проблем Севера”, Красноярск, Россия*

³*Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия*

⁴*Красноярский государственный аграрный университет, Красноярск, Россия*

**E-mail: helena.biryukova.1996@gmail.com*

Поступила в редакцию 02.09.2024 г.

После доработки 23.12.2024 г.

Принята к публикации 11.01.2025 г.

Уникальные физические, химические и магнитные свойства наночастиц оксида железа (НЧЖ) открывают широкие перспективы использования наноматериалов в диагностике и терапии различных заболеваний. Несмотря на высокий интерес со стороны научного сообщества, механизм воздействия НЧЖ на физиологию живых организмов до конца не изучен. Это связано с тем, что токсичность наночастиц зависит от множества факторов, включая размер, метод синтеза и наличие оболочки. Целью данного исследования являлось изучение влияния НЧЖ на морфологическую структуру почек в зависимости от способа синтеза и наличия полисахаридной оболочки после перорального введения. В исследовании использовались НЧЖ, представляющие собой ферригидрит синтетического и биогенного происхождения. Эксперимент проводился на трех группах животных (55 особей): 1-я группа – контрольная (15 особей), корм без добавок; 2-я группа (20 особей) – опытная, в корм вводились синтетические НЧЖ; 3-я группа (20 особей) – опытная, в корм вводились инкапсулированные биогенные НЧЖ. Забор биологического материала почки для гистологического исследования проводили на 1-е сутки до введения корма с НЧЖ, на 22-е, 36-е сутки после введения в корм НЧЖ. Гистологическое исследование проводили с помощью стандартной методики. Окрашивание гистологических срезов осуществляли гематоксилин-эозином и по Перлеу. Исследуемые морфометрические параметры почки анализировали с помощью программы Морфология 7.0. В результате исследования обнаружено, что многократное введение НЧЖ как синтетического, так и биогенного происхождения сопровождается гемодинамическими расстройством в изученном органе, а также дистрофическими и некротическими изменениями клеток паренхимы почек, приводящими к развитию почечной недостаточности. Наиболее выраженной реакционной активностью обладают НЧЖ, полученные биогенным способом, что, вероятно, связано с наличием полисахаридной оболочки и кристаллической структурой соединения железа.

Ключевые слова: почки мышей, наночастицы ферригидрита, пероральное введение, морфометрические показатели, гистологическое исследование

ВВЕДЕНИЕ

Наночастицы оксида железа (НЧЖ) привлекают все большее внимание в широком спектре биомедицинских исследований [1, 2]. Различные модификации НЧЖ рассматриваются как перспективные агенты для направленной доставки лекарств [3], применяются в разработке новых биосенсоров [4], фотодинамической терапии [5], используются в качестве контрастных агентов при МРТ [6] и являются перспективными источниками железа, в том числе при железодефицитных состояниях [7].

Одной из форм соединений железа является ферригидрит, который обладает высокой метастабильностью и играет огромную роль в физиологии живых организмов. Биосовместимость, сверхмалый размер (менее 10 нм) и наличие нескомпенсированного магнитного момента делает наночастицы ферригидрита актуальным объектом для изучения [8]. Однако несмотря на огромные перспективы биомедицинского применения наночастиц и большое количество исследований, посвященных взаимодействию НЧЖ с биологическими системами, эффекты их воздействия на физиологию животных и человека до конца не изучены [9]. В качестве основных механизмов, обуславливающих негативное воздействие НЧЖ, выделяют повышение уровня провоспалительных цитокинов и митохондриальную дисфункцию, что приводит к увеличению продукции активных форм кислорода [10], связыванию с белками [11], повреждению клеточных мембран [12].

На данный момент известно, что выраженность патологических процессов в тканях и органах после воздействия НЧ зависит от таких характеристик, как размер, наличие оболочки и способ получения [13–15].

Почки являются ключевым органом фильтрации крови и удаления продуктов метаболизма и играют основную роль в выведении НЧ *in vivo* [16]. По этой причине необходимо всесторонне изучать почечную нанотоксичность, поскольку нарушение физиологических функций почек влечет за собой развитие различных патологических процессов [17]. Большинство исследований в области изучения почечной токсичности НЧ *in vivo* проводятся после внутримышечного или внутривенного введения. Оценка же негативного воздействия НЧЖ при длительном пероральном поступлении проводится реже, что делает подобные исследования крайне актуальными.

Целью данного исследования являлось изучение влияния НЧЖ на морфологическую структуру почек в зависимости от способа их синтеза и наличия полисахаридной оболочки после перорального введения.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данном исследовании использовались НЧЖ, представляющие собой ферригидрит синтетического и биогенного происхождения. Синтетические наночастицы были получены путем гидролиза нитрата железа (III). В результате данной реакции был получен осадок из наночастиц, который в дальнейшем промывали дистиллированной водой и высушивали при температуре 20–25°C. Размер наночастиц был определен на электронном микроскопе Hitachi HT7700 (Hitachi High Technologies, Япония) Красноярского научного центра СО РАН и составлял ~ 2.5 нм.

Биогенные наночастицы выделяли в ходе жизнедеятельности бактерии *Klebsiella oxytoca* [18]. В ходе культивации получали золь из биогенных НЧЖ, который впоследствии был высушен при комнатной температуре. Размер наночастиц определяли на анализаторе Zetasizer Nano (Malvern Instruments Ltd., Малверн, Великобритания) в Красноярском научном центре СО РАН. Он составлял 2–3 нм. Наличие полисахаридной оболочки было определено в ходе изучения ИК-спектров биогенных наночастиц на Фурье спектрометре Bruker-Vertex 80V (Bruker Elemental GmbH, Германия).

Исследование проводилось на лабораторных мышах (самцы) аутбредной популяции ICR, полученных из питомника Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии “Вектор”. Масса животных на начало эксперимента составляла 22–24 г, возраст – 3 месяца. Всего в эксперименте использовано 55 особей, которые были разделены на 3 группы. В 1-ю группу (15 особей) вошли интактные животные, получавшие стандартное кормление (16 г корма “Дельта Фидс” Р-22 на одну голову в сутки). Животным 2-й группы (20 особей) в корм добавляли синтетические НЧЖ. Животным 3-й группы (20 особей) в корм добавляли биогенные НЧЖ. Корм “Дельта Фидс” предварительно перемешали с использованием устройства ES-8300 (“Экохим”, Россия), далее к корму объемом 10 кг добавляли 500 мг сухого золя НЧЖ из расчета 25 мг/кг на 1 животное. Кормовая смесь повторно перемешивалась в лабораторном смесителе СЛ-12пнд (ООО “ЗЕРНОТЕХНИКА”, Россия). Для раздачи корма использовался мерный стакан. Доступ к воде и пище был свободный. Длительность эксперимента составляла 36 суток. Кормовую смесь начинали давать с первого дня эксперимента. Забор образцов для контроля осуществляли в 1-е сутки эксперимента до начала кормления (интактные особи, $n = 5$); далее после введения прикорма на 22-е (интактные особи, $n = 5$; экспериментальные особи, входящие во 2-ю группу, $n = 10$; экспериментальные особи, входящие в 3-ю группу, $n = 10$) и на 36-е сутки (интактные особи, $n = 5$; экспериментальные особи, входящие во 2-ю группу, $n = 10$; экспериментальные особи, входящие в 3-ю группу, $n = 10$). Животные содержались в стандартных условиях вивария.

Исследуемые органы фиксировали в 10%-ном формалине HistoSafe (“Биовитрум”, Россия). Фиксированные образцы ткани почки обрабатывали на автоматическом тканевом процессоре Thermo Scientific STP 120 (Германия). Образцы исследуемой ткани помещали в парафиновые блоки с помощью станции заливки (HistoStar Thermo Scientific, Германия). Серийные срезы исследуемой ткани толщиной 4 мкм делали с помощью микротомы (НМ 340Е, HistoStar Thermo Scientific, Германия). Для окрашивания гистологических срезов почки использовали автоматическую фиксацию и окрашивание мазков (АФОМК-16-26 ПРО, Россия) гематоксилином, эозином и по Перлсу. Микропрепараты анализировали в проходящем свете на микроскопе Axiolab 5 (Carl Zeiss, Германия) с фотосъемкой с помощью цифровой фотокамеры Axiocam 208 color (Carl Zeiss). Микрофотографии для проведения морфометрических измерений получены при увеличениях в $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$ раз. На каждом срезе при каждом увеличении производили фотосъемку не менее 10 полей зрения.

Для морфометрического анализа почки использовали программное обеспечение «Анализ изображений («ВидеоТест-Морфология 7.0»)» (“ВидеоТест”, Санкт-Петербург). Перед началом измерений производилась калибровка с помощью объект-микрометра ОМП (выпущенного по ГОСТ 7513-55 и прошедшего поверку по методике Государственной системы обеспечения единства измерений ГСИ). В результате морфометрических исследований изучали размеры площади капсулы (мкм^2), площади клубочка (капсулы Шумлянско-Боумена) (мкм^2), диаметр собирательных трубок (мкм) (СТ), диаметр проксимальных канальцев (мкм) (ПК), высоту эпителия проксимальных канальцев (мкм) (ПК), диаметр дистальных канальцев (мкм) (ДК), высоту эпителия дистальных канальцев (мкм) (ДК).

База данных формировалась при помощи программы Microsoft Excel (Microsoft, США). Описание выборки производили с учетом нормального распределения с помощью подсчета среднего результата (M) и ошибки среднего (m). Достоверность различий (p) оценивали между показателями независимых выборок с помощью U-критерия Манна-Уитни с использованием программы Statistica 10.0. Различия считали значимыми от $p < 0.05$. При анализе достоверных результатов учитывали принцип Бонферрони, который позволил снизить вероятность ложноположительных результатов эксперимента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфометрические параметры почек исследуемых групп приводятся в табл. 1.

У животных 2-й группы на 22-й день эксперимента отмечалось увеличение диаметра проксимального канальца в 1.14 раза ($p < 0.001$) относительно контроля. На 36-е сутки было отмечено уменьшение диаметра собирательных трубок в 1.11 раза ($p < 0.001$) относительно контроля. Внутри группы в динамике наблюдалось уменьшение диаметра собирательных трубок в 1.12 раза ($p < 0.001$).

У животных 3-й группы на 22-е сутки было отмечено увеличение площади самого клубочка в 1.52 раза ($p = 0.004$) и диаметра проксимального канальца в 1.12 раза ($p < 0.001$) относительно контроля. Размер клубочка относительно 2-й группы увеличился в 1.34 раза ($p = 0.008$). Диаметр собирательных трубок достоверно не изменялся. Внутри группы в динамике наблюдались увеличение высоты клеток проксимального канальца в 1.09 раза ($p < 0.001$) и небольшое снижение высоты клеток дистального канальца ($p < 0.005$).

Таблица 1. Морфометрические параметры почек мышей при добавлении в корм НЧЖ синтетического и биогенного происхождения, $M \pm m$

Морфометрический параметр	1-я группа (контроль)			2-я группа (синтетические НЧЖ)		3-я группа (биогенные НЧЖ)	
	1-е сутки	22-е сутки	36-е сутки	22-е сутки	36-е сутки	22-е сутки	36-е сутки
	$n = 5$	$n = 5$	$n = 5$	$n = 10$	$n = 10$	$n = 10$	$n = 10$
Площадь капсулы, мкм ²	4603 ± 1323.1	5849 ± 1695.9	6537 ± 930.9	6389 ± 2054.6	8229 ± 2748.8 [§]	7444 ± 1889.5 [§]	7772 ± 2902.5 [§]
Площадь клубочка, мкм ²	1780 ± 701.5	2628 ± 1087.5	3226 ± 730.8	2980 ± 1007.5	3861 ± 1413.9	4004 ± 1239.9 [§]	3967 ± 1568.2 [§]
Диаметр СТ, мкм	32 ± 3.2	36 ± 1.1	29 ± 2.4	31 ± 5.4	26 ± 2.6 [§]	29 ± 2.3 [§]	27 ± 2.7 [§]
Диаметр ПК, мкм	34 ± 2.9	37 ± 1.9	43 ± 2.3	43 ± 8.2 [§]	41 ± 4.7 [§]	42 ± 3.2 [§]	42 ± 4.6 [§]
Высота эпителия ПК, мкм	12 ± 1.1	12 ± 1.5	13 ± 1.1	11 ± 3.9	12 ± 1.4	11 ± 0.9 [§]	12 ± 1.4 [§]
Диаметр ДК, мкм	26 ± 4.9	27 ± 3.1	28 ± 2.8	27 ± 7.7	27 ± 4.4	29 ± 2.8 [§]	27 ± 3.9
Высота эпителия ДК, мкм	7 ± 1.2	6 ± 0.9	8 ± 0.6	7 ± 1.4	7 ± 1.1	7 ± 0.9 [§]	8 ± 1.3 [§]

Примечание. Значимость различий по сравнению с показателями группы контроля: [§]($p < 0.05$) – на 1-е сутки эксперимента, [®]($p < 0.05$) – на 22-е сутки эксперимента, [§]($p < 0.05$) – на 36-е сутки эксперимента. Значимость различий по сравнению с показателями 2-й группы: [§]($p < 0.05$) – на 22-е сутки эксперимента, [^]($p < 0.05$) – на 36-е сутки эксперимента; n – число животных. Значимость различий по сравнению с показателями 3-й группы: [®]($p < 0.05$) – на 22-е сутки эксперимента; n – число животных.

Морфологическое исследование почек животных контрольной группы, не получавших корм с НЧЖ, показало, что структура коркового и мозгового вещества не нарушена и отражает полноценное функционирование органа. Капсула почки тонкая, корковый и мозговой слои хорошо просматриваются. В корковом веществе клубочки округлые, однородные, равномерно распределены в корковом слое. Просветы капсул Шумлян-ского–Боумена щелевидные, пустые. Капилляры клубочков находятся в спавшемся состоянии. Эпителий прямых и извитых канальцев светлый, однородный, с хорошо дифференцирующимися ядрами. Просветы канальцев свободные. В сосудах стромы выявляется небольшое количество эритроцитов.

При морфологическом исследовании почек у животных 2-й группы на 22-е сутки соединительнотканная капсула тонкая, корковый и мозговой слои хорошо просматриваются. Отмечается выраженное кровенаполнение капилляров клубочков, кровеносных сосудов стромы коркового и мозгового слоев, многочисленные кровоизлияния. Диаметр как крупных, так и мелких сосудов резко расширен, а их просвет переполнен густо расположенными клетками крови, в основном эритроцитами, находящимися в состоянии агрегации (рис. 1a). У некоторых животных в этой группе, помимо перечисленных признаков, отмечались диффузно расположенные очаги некрозов, которые приводили к нарушению функции органа (рис. 1b). В сосудистых клубочках отмечалась гипертрофия клубочков, характеризующаяся лапчатым строением. Выявлялись острое полнокровие капилляров клубочков, набухание петель, пролиферация эндотелиальных клеток, пролиферация мезангиальных клеток в капсуле. Некоторые гломерулы были некротически изменены: капилляры клубочка некротизировались, в просвете капсулы присутствовал эозинофильный фильтрат, отмечали пролиферацию мезангиальных клеток и десквамацию клубочковой каемки (рис. 1c, d). В проксимальном нефроэпителии отмечали диспротеиназы в виде зернистой дистрофии с очагами гидропической. Она проявлялась увеличением клеток эпителия, их набуханием, увеличением размера ядер, в просвете канальцев выявлялась десквамация щеточной каемки. В некоторых просветах проксимальных канальцев отмечались следы белковых масс, что приводит к нарушению фильтрации. Дистальные канальцы растянуты и дистрофически изменены. В просветах канальцев присутствовал клеточный детрит (рис. 1e). Эпителий петли Генле и собирательных трубок некоторых нефронов, лежащих в мозговом веществе, с признаками зернистой и местами гидропической дистрофии – (рис. 1f). При окраске по Перлсу соединения железа в почках не обнаруживались (рис. 1g). В мозговом веществе почки отмечалось полнокровие сосудов, очаговые периваскулярные кровоизлияния, в некоторых местах отмечался феномен сепарации крови (рис. 1h).

При морфологическом исследовании почек животных 2-й группы на 36-е сутки наблюдали следующую картину: соединительнотканная капсула тонкая, четко просматриваются корковый и мозговой слои. Гистоархитектоника органа повредилась из-за распространения очагов некроза и нарушения кровообращения. Выявлялось кровенаполнение капилляров клубочков, сосудов стромы коркового и мозгового слоев, отмечались кровоизлияния, отеки. Кровеносные сосуды расширены, их просветы заполнены кровью (рис. 2a). Отмечались атрофия и гипертрофия почечных телец, сопровождающиеся нарушением функции капиллярных петель с пролиферацией мезангиальных клеток и десквамацией клубочковой каемки (рис. 2b). В проксимальном нефроэпителии были выявлены дистрофические изменения, выражающиеся в увеличении эпителиальных клеток, десквамации в просвет канальцев щеточной каемки. Цитоплазма клеток нефроэпителия была зернистая, резко эозинофильная. В некоторых клетках обнаруживали признаки гидропической дистрофии. Дистальные канальцы были растянуты и дистрофически изменены (рис. 2c). В мозговом веществе почки отмечалось полнокровие сосудов, кровоизлияния. В некоторых нефронах эпителий петли Генле и собирательных трубок, лежащих в мозговом веществе, с признаками зернистой и ме-

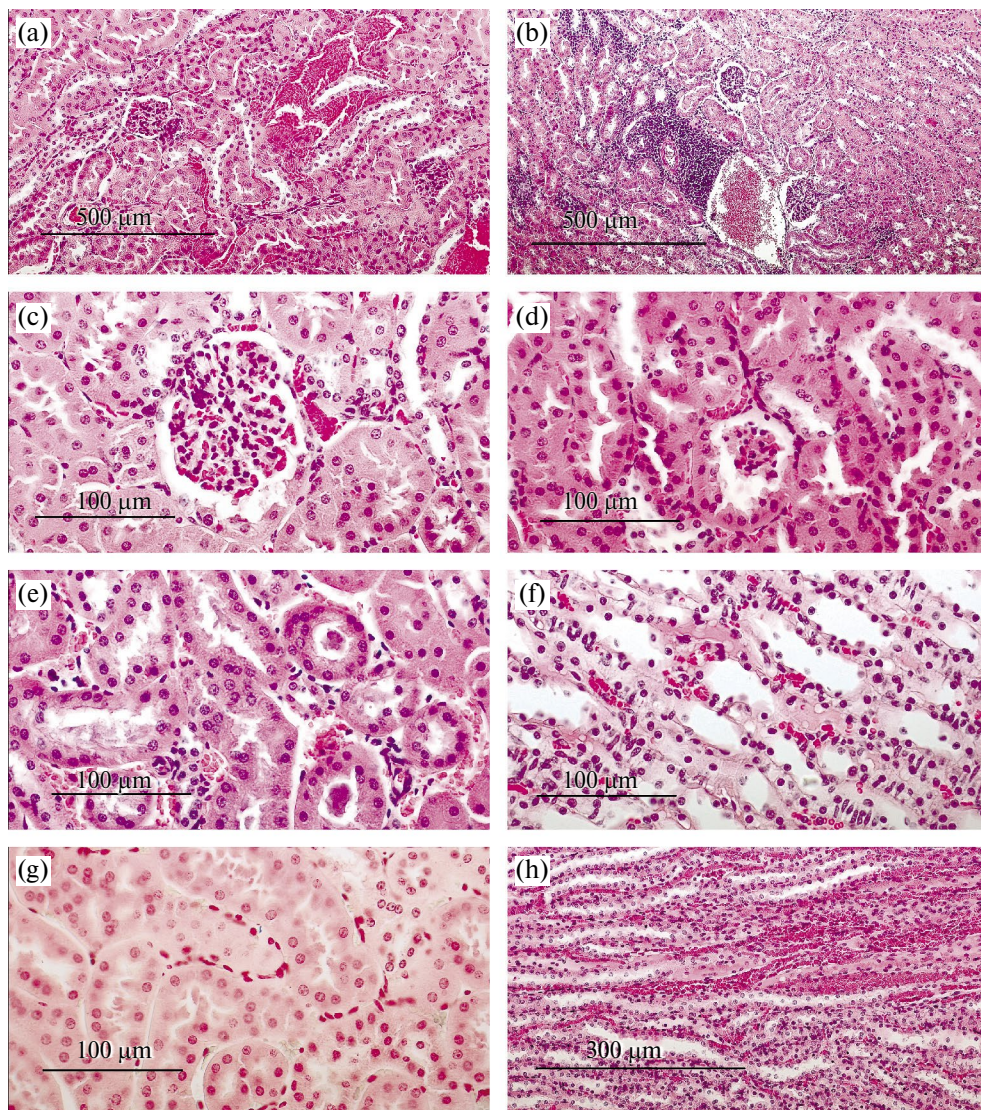


Рис. 1. Группа 2, 22-е сутки. Окрашивание гематоксилин-эозин: (а) – полнокровие сосудов стромы почки и капилляров клубочков, кровоизлияния, $\times 200$; (б) – очаг некроза в почечной ткани, $\times 200$; (с) – гипертрофия почечного клубочка, $\times 400$; (д) – некротические изменения сосудистого клубочка, $\times 400$; (е) – дистрофические изменения эпителия извитых канальцев. В почечных канальцах следы эозинофильных масс, $\times 400$; (ф) – эпителий петли Генле и собирательных трубок части нефронов с признаками зернистой и местами гидропической дистрофии, $\times 400$; (г) – отрицательная реакция по Перлсу, $\times 400$; (h) – кровенаполнение кровеносных сосудов, кровоизлияния в мозговом веществе почки, феномен сепарации крови, $\times 200$.

стами гидропической дистрофии. Отмечались участки с выраженным некробиозом. В части эпителия нефронов отмечалась атипизация клеток: клетки разного размера, с разным количеством ядер (рис. 2d, e). В извитых канальцах почки при окраске по Перлсу на соединения железа (отмечены черными стрелками) отмечалась положительная реакция (рис. 2f).

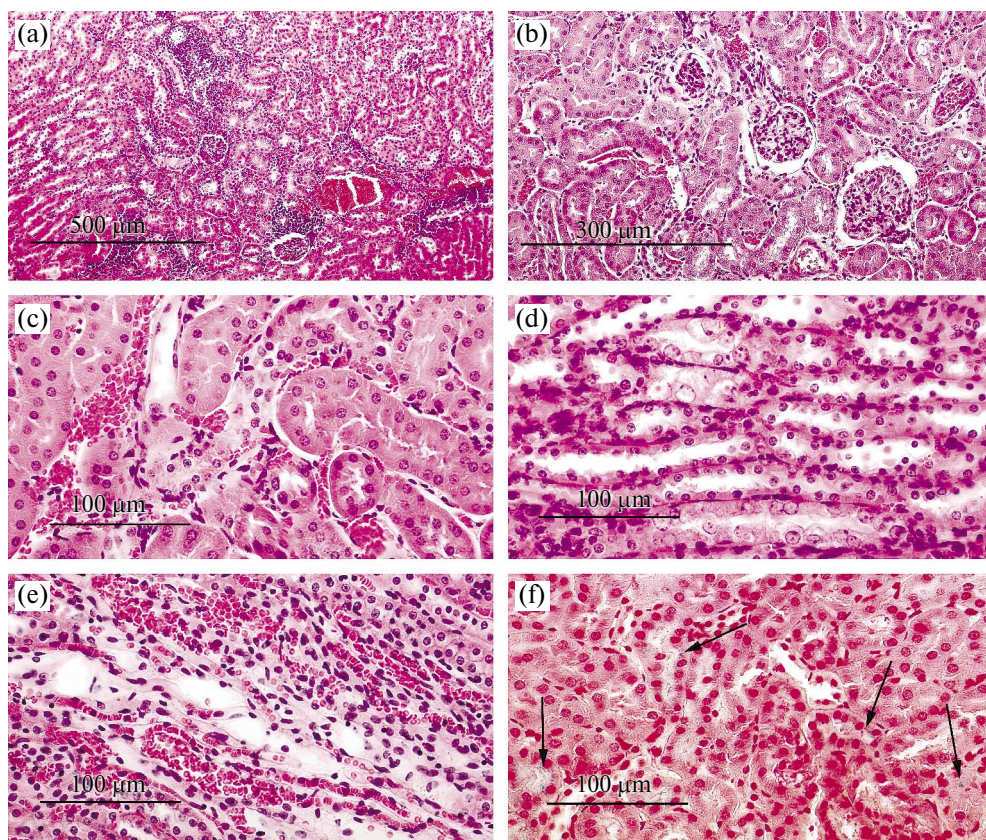


Рис. 2. Группа 2, 36-е сутки. Окрашивание гематоксилин-эозин: (а) – диффузное распространение очагов некроза по почечной ткани, полнокровие сосудов стромы почки и капилляров клубочков, $\times 100$; (б) – гипертрофия и атрофия почечных клубочков, $\times 200$; (с) – некробиотические изменения извитых почечных канальцев, кровоизлияния, отеки, в строме инфильтрация лейкоцитами, $\times 400$; (д) – в некоторых нефронах некробиотические изменения и атипизация клеток эпителия петли Генле и собирательных трубок в мозговом веществе, $\times 400$; (е) – в части нефронов очаги некроза эпителия петли Генле и собирательных трубок, $\times 400$; (ф) – в нефроэпителии извитых канальцев почки отмечаются мелкие вкрапления синего цвета при окраске по Перлсу, $\times 400$.

При морфологическом исследовании почек у животных 3-й группы на 22-е сутки соединительнотканная капсула тонкая, корковый и мозговой слои просматриваются. В почечной ткани отмечалось нарушение гистологической структуры органа из-за расширенных кровенаполненных кровеносных сосудов почки, кровоизлияний, воспалительной инфильтрации, мелких очагов некроза (рис. 3а, б). Перитубулярные капилляры, располагающиеся вокруг почечных канальцев, в состоянии острого кровенаполнения. Диаметр как крупных, так и мелких сосудов резко расширен, а их просвет переполнен густо расположенными клетками крови, отмечается феномен сепарации крови (рис. 3с). Сосудистые клубочки были разных размеров. Отмечалась гипертрофия клубочков: лапчатое строение, полнокровие капилляров клубочков, набухание петель, пролиферация эндотелиальных клеток и мезангиальных клеток в капсуле. Многие гломерулы были некротически изменены: капсула утолщалась, капилляры клубочка некротизировались (рис. 3д, е). Эпителий проксимальных и дистальных канальцев имел признаки зернистой и гидропической дистрофии. Отмечалось расширение нефроэпителия почки и появление в просветах канальцев белковых масс. Перитубулярные ка-

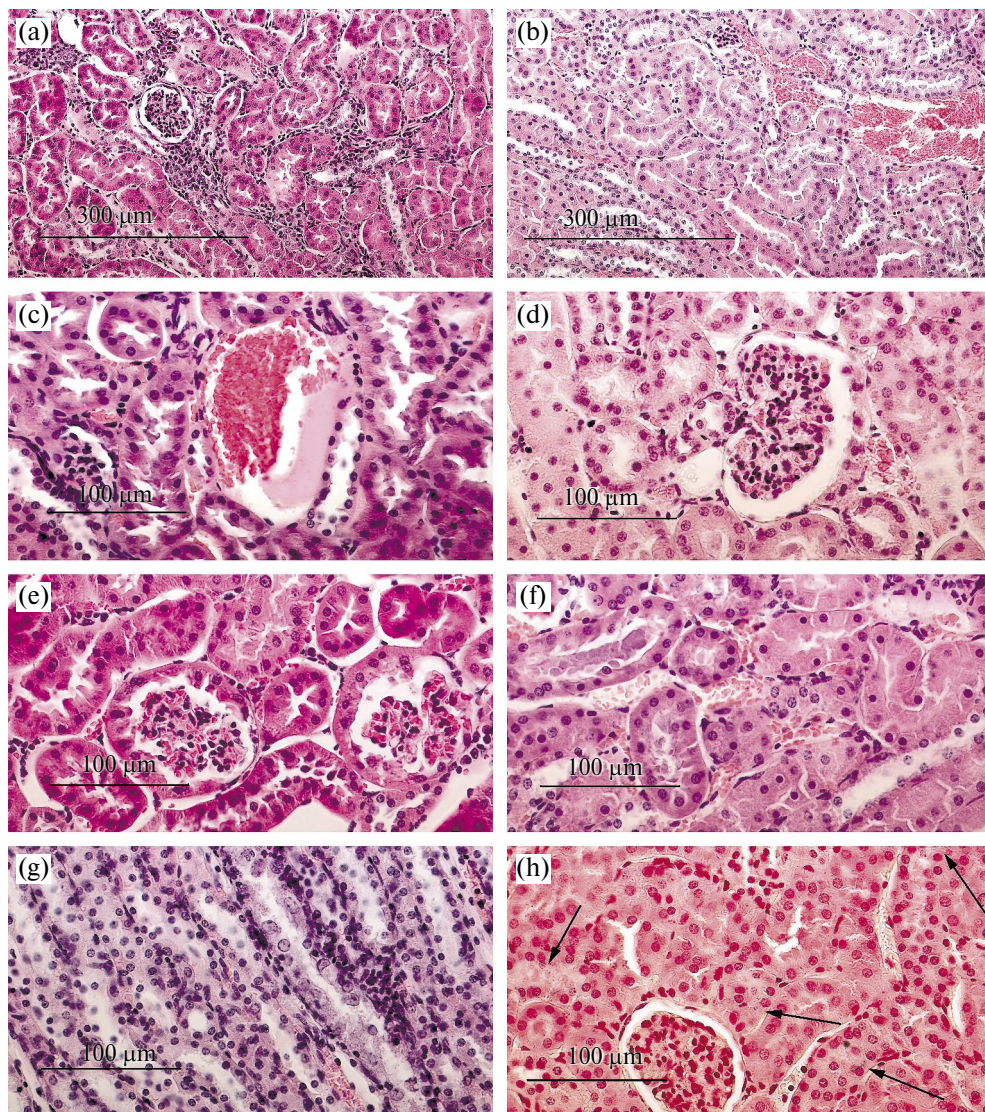


Рис. 3. Группа 3, 22-е сутки. Окрашивание гематоксилин-эозин: (а) – диффузно расположенный очаг некроза в почечной ткани, $\times 400$; (б) – острое полнокровие сосудов стромы почки $\times 200$; (с) – феномен сепарации крови при кровоизлиянии в почке, $\times 400$; (д) – гипертрофия почечного тельца, $\times 400$; (е) – атрофия почечных телец, $\times 400$; (ф) – перитубулярные капилляры кровенаполнены, лейкоцитарная инфильтрация в почечной ткани, дистрофические изменения извитых канальцев почки, в просветах канальцев белковые массы, $\times 400$; (г) – в части нефронов некробиотические изменения и атипизация клеток эпителия петли Генле и собирательных трубок в мозговом веществе, $\times 400$; (h) – положительная реакция по Перлсу, $\times 400$.

пилляры кровенаполнены, отмечалась лейкоцитарная инфильтрация в почечной ткани. В дистальных канальцах отмечали дистрофические изменения: увеличивался размер клеток и ядер (рис. 3f). В мозговом веществе почки отмечалось полнокровие сосудов, кровоизлияния, при этом в части нефронов выявлено расширение просвета петли Генле и собирательных трубок. У некоторых нефронов эпителий петли Генле и собирательных трубок, лежащих в мозговом веществе, с признаками зернистой и местами

гидропической дистрофии. В части эпителия нефронов отмечалась атипизация клеток: клетки разного размера, с разным количеством ядер (рис. 3г). При окраске по Перлсу на соединения железа в почках выявлена положительная реакция. Определены множественные мелкие включения железа в извитых канальцах почки (рис. 3h).

Исследование почек животных 3-й группы на 36-е сутки выявило выраженный характер патологических изменений (рис. 4а). Капилляры клубочков и сосудов стромы коркового и мозгового слоев кровенаполнены, наблюдался эффект сепарации крови, кровоизлияния (рис. 4b). Выявлена гипертрофия сосудистых клубочков: увеличение размера, пролиферация эндотелиальных клеток, набухание петель, эозинофильный фильтр. Атрофия клубочков проявлялась в их сжатии, утолщении капсулы за счет увеличения фибробластов, пролиферации мезангиальных клеток. У некротически измененных сосудистых клубочков была нарушена структура самого сосудистого клубочка, петель и капсулы (рис. 4с). В проксимальном нефроэпителии были выявлены дистрофические изменения, выражающиеся в увеличении эпителиальных клеток, десквамации в просвет канальца щеточной каемки и присутствии единичных эпителиоцитов. Цитоплазма

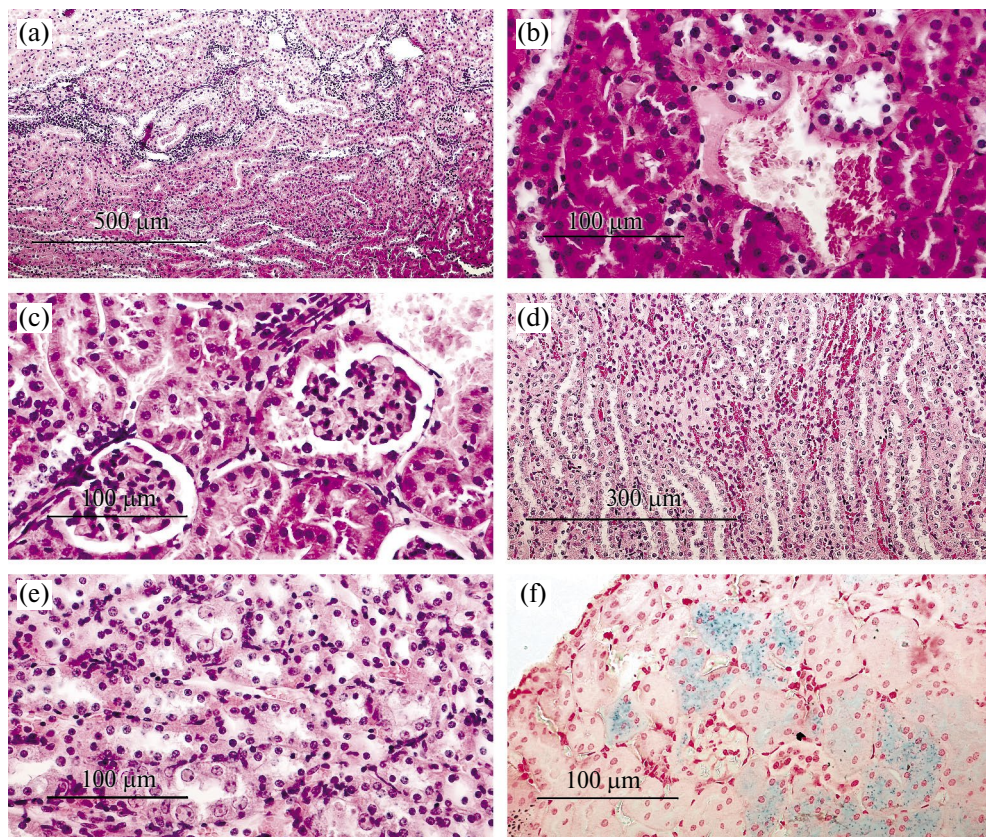


Рис. 4. Группа 3, 36-е сутки. Окрашивание гематоксилин-эозином: (а) – очаги некроза, распространяющиеся на нефроэпителиальные канальцы и капсулы, $\times 100$; (б) – кровоизлияние между извитыми канальцами почки, эффект сепарации крови, $\times 400$; (с) – кровоизлияния, склероз капсул Шумлянско-Боумана, нефроэпителий с признаками некробиоза $\times 400$; (d) – кровоизлияния с эффектом сепарации крови в мозговом веществе почки, $\times 200$; (е) – атипизация клеток нефроэпителия в мозговом веществе почки, $\times 400$; (f) – положительная реакция по Перлсу, $\times 400$.

клеток нефроэпителия зернистая, резко эозинофильная. Отмечалось увеличение участков почечной ткани с признаками гидропической дистрофии. В дистальном нефроэпителии были выявлены дистрофические изменения, где клетки и ядра увеличивались в размерах, а также отмечалось увеличение участков с гидропической дистрофией (рис. 4b, c). В мозговом веществе почки отмечались полнокровие сосудов, кровоизлияния с эффектом сепарации крови. Просвет части нефронов петли Генле и собирательных трубок расширен, их эпителий с признаками зернистой и местами гидропической дистрофии. В части эпителия нефронов отмечалась атипизация клеток: клетки разного размера, с разным количеством ядер (рис. 4d, e). При окраске по Перлсу в почках обнаруживали обширные участки с включениями железа (рис. 4f).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Несмотря на то, что на сегодняшний день НЧЖ активно исследуются, однозначные сведения об их биораспределении и фармакокинетике отсутствуют. Несогласованность сведений о биологических эффектах НЧЖ объясняется как широким варьированием их физико-химических свойств, так и особенностями внутриклеточного воздействия [19, 20]. В живом организме может интенсивно протекать процесс агрегации наночастиц при взаимодействии с белками, что затрудняет их выведение и способствует накоплению в клетках [21]. Также высокая реабсорбционная способность эпителиальных клеток почечных канальцев обуславливает накопление НЧЖ в почках, что приводит к повреждению и нарушению их физиологических функций [22].

Морфометрические показатели структурных компонентов почки показывают взаимосвязь между размером нефрона и его физиологической эффективностью [23]. В проведенном исследовании данные морфометрического анализа почек животных 2-й и 3-й опытных групп (увеличение площади капсулы, площади клубочка, увеличение диаметра проксимальных канальцев почки) могут указывать на развитие патологических процессов в почечной ткани вследствие воздействия НЧЖ. Тенденция к увеличению размера нефронов является компенсаторным механизмом в ответ на снижение их функциональности или количества [24, 25]. Увеличение диаметра проксимального канальца с сохранением высоты клеток приводит к расширению просвета канальца, что является одним из признаков нарушения его реабсорбционной функции и почечной недостаточности [26, 27].

При морфологическом исследовании почек у экспериментальных животных 2-й и 3-й опытных групп выявлены такие признаки токсического поражения мочевыводящей системы, как полнокровие сосудов коркового и мозгового вещества с эффектом сепарации крови, кровоизлияния, некробиотические изменения извитых канальцев, увеличение капсул Шумлянского–Боумена, полнокровие капиллярных петель, расширение собирательных трубок, атипизация клеток эпителия в собирательных трубках, которые могут привести к нарушению концентрационной, реабсорбционной и секреторной функции органа.

Можно предположить, что поражение почек и возможное снижение их функциональности возникает из-за повышенного содержания в крови продуктов перекисного окисления липидов в ответ на накопление в клетках почечных канальцев НЧЖ, которые были обнаружены в извитых канальцах у животных обеих опытных групп. Полученные результаты согласуются с данными других исследований [28, 29]. Сверхмалый размер наночастиц ферригидрита усиливает их реакционную способность, что может усугублять уже имеющиеся патологические процессы в почке [30].

Стоит отметить, что при многократном пероральном введении биогенных НЧЖ токсическое действие на почку было выражено сильнее. Нарушения гистоархитектоники почечной ткани выявлялись уже на 22-е сутки после введения в прикорм биогенных НЧЖ. В данной группе выявлена атипизация клеток в собирательных трубках, приводящая к опухолям, выраженное расширение и некробиотические изменения в эпи-

телии петель Генле и собирательных трубок. Выявленные свойства НЧЖ биогенного происхождения можно связать с тем, что наночастицы ферригидрита, синтезируемые *Klebsiella oxytoca*, встроены в полисахаридную матрицу, что, по некоторым данным [31], усиливает их биологическую активность. Также стоит отметить, что в процессе культивации *Klebsiella oxytoca* создает две кристаллические модификации ферригидрита, количественное соотношение которых изменяется со временем [32]. Информация о зависимости токсичности от кристаллической структуры наночастиц получена на примере диоксида титана [33], подобных исследований с соединениями железа нами не обнаружено. Дальнейшая работа в этом направлении поможет улучшить наше понимание о патофизиологических механизмах токсичности наночастиц на наноуровне, а также разработать возможные решения для их минимизации.

Полученные в ходе эксперимента результаты свидетельствуют о том, что введенные в организм мышей НЧЖ, полученные различными способами, обладают разнонаправленной динамикой накопления в почке. Особенность патологических процессов в почке и динамика накопления наночастиц железа в почечной ткани зависят не только от наличия оболочки, но и от кристаллической структуры НЧЖ. В дальнейших исследованиях стоит учитывать, что уникальные ультраструктурные характеристики НЧЖ, получаемые в ходе различных методов синтеза, оказывают влияние на тропность к конкретным тканям и органам, что определит спектр возможного применения в биомедицине.

ВЫВОДЫ

Многократное введение НЧЖ как синтетического, так и биогенного происхождения сопровождается гемодинамическими расстройствами в изученном органе, а также дистрофическими и некротическими изменениями клеток паренхимы почек, приводящими к развитию почечной недостаточности. Наиболее выраженной реакционной активностью обладают НЧЖ, полученные биогенным способом. Уже на 22-е сутки после введения биогенных НЧЖ отмечается атипизация клеток эпителия извитых канальцев почки, нарушение гистоархитектоники почечной ткани и накопление железосодержащих включений. Особенности токсического воздействия наночастиц зависят от наличия оболочки и кристаллической структуры соединения железа.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

А. В. К. – анализ и интерпретация данных, О. А. К. – концепция и дизайн исследования, статистический анализ, Е. А. Б. – сбор и обработка материала, С. В. С. – анализ и интерпретация данных, редактирование.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работа проведена на животных из Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии “Вектор” с соблюдением рекомендаций по этике работы с животными. Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями и были одобрены Локальным этическим комитетом Федерального исследовательского центра “Красноярский научный центр СО РАН” (протокол заседания комиссии № 6 от 10.06.2024 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Magro M, Baratella D, Bonaiuto E, de A Roger J, Vianello F* (2017) New Perspectives on Biomedical Applications of Iron Oxide Nanoparticles. *Curr Med Chem* 25. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170616102922>
2. *Dadfar SM, Roemhild K, Drude NI, von Stillfried S, Knüchel R, Kiessling F, Lammers T* (2019) Iron oxide nanoparticles: Diagnostic, therapeutic and theranostic applications. *Adv Drug Deliv Rev* 138.
3. *Ebadi M, Buskaran K, Bullo S, Hussein MZ, Fakurazi S, Pastorin G* (2021) Drug delivery system based on magnetic iron oxide nanoparticles coated with (polyvinyl alcohol-zinc/aluminium-layered double hydroxide-sorafenib). *Alexandr Engin J* 60: 733–747. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2020.09.061>
4. *Lang X, Singh R, Zeng Q, Li J, Tosi D, Nedoma J, Marques C, Zhang B, Kumar S* (2024) Chitosan-coated iron(III) oxide nanoparticles and tungsten disulfide quantum dots-immobilized Fiber-based WaveFlex Biosensor for *Staphylococcus Aureus* bacterial detection in real food samples. *Sensors Actuators Rep* 8: 100239. <https://doi.org/10.1016/j.snr.2024.100239>
5. *Fauiod OG, Fadel M, El-Hussein A, Fadeel DA* (2024) Aluminum phthalocyanine tetrasulfonate conjugated to surface-modified iron oxide nanoparticles as a magnetic targeting platform for photodynamic therapy of Ehrlich tumor-bearing mice. *Photodiagn Photodyn Ther* 50: 104356. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2024.104356>
6. *Rahman M* (2023) Magnetic Resonance Imaging and Iron-oxide Nanoparticles in the era of Personalized Medicine. *Nanotheranostics* 7: 424–449. <https://doi.org/10.7150/ntno.86467>
7. *Baumgartner J, Winkler HC, Zandberg L, Tuntipopipat S, Mankong P, Bester C, Hilty F, Zeevaart JR, Gowachirapant S, Zimmermann MB* (2022) Iron from nanostructured ferric phosphate: Absorption and biodistribution in mice and bioavailability in iron deficient anemic women. *Sci Rep* 12: 2792. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06701-x>
8. *Chilom CG, Sandu N, Iftimie S, Bălășoiu M, Rogachev A, Orelovich O, Stolyar S* (2021) Interactions of Chemically Synthesized Ferrihydrite Nanoparticles with Human Serum Transferrin: Insights from Fluorescence Spectroscopic Studies. *Int J Mol Sci* 22: 7034. <https://doi.org/10.3390/ijms22137034>
9. *Vargas-Ortiz JR, Gonzalez C, Esquivel K* (2022) Magnetic Iron Nanoparticles: Synthesis, Surface Enhancements, and Biological Challenges. *Processes* 10: 2282. <https://doi.org/10.3390/pr10112282>
10. *Shah A, Mankus CI, Vermilya AM, Soheilian F, Clogston JD, Dobrovolskaia MA* (2018) Feraheme® suppresses immune function of human T lymphocytes through mitochondrial damage and mitoROS production. *Toxicol Appl Pharmacol* 350: 52–63. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.04.028>
11. *Sabourian P, Yazdani G, Ashraf SS, Frounchi M, Mashayekhan S, Kiani S, Kakkar A* (2020) Effect of Physico-Chemical Properties of Nanoparticles on Their Intracellular Uptake. *Int J Mol Sci* 21: 8019. <https://doi.org/10.3390/ijms21218019>
12. *Foroozandeh P, Aziz AA* (2018) Insight into Cellular Uptake and Intracellular Trafficking of Nanoparticles. *Nanoscale Res Lett* 13: 339. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2728-6>
13. *Mohamed EK, Fathy MM, Sadek NA, Eldosoki DE* (2024) The effects of rutin coat on the biodistribution and toxicities of iron oxide nanoparticles in rats. *J Nanopart Res* 26: 49. <https://doi.org/10.1007/s11051-024-05949-w>
14. *Kumari M, Rajak S, Singh SP, Kumari SI, Kumar PU, Murty USN, Mahboob M, Grover P, Rahman MF* (2012) Repeated Oral Dose Toxicity of Iron Oxide Nanoparticles: Biochemical and Histopathological Alterations in Different Tissues of Rats. *J Nanosci Nanotechnol* 12: 2149–2159. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.5796>
15. *Mahalakshmi A, Kurian GA* (2019) Evaluation of Chemical and Green Synthesized Iron Oxide Nanoparticles' Associated Renal Toxicity in Different Experimental Models: A Comparative Study. *J Clust Sci* 30: 343–350. <https://doi.org/10.1007/s10876-018-01492-6>
16. *Du B, Yu M, Zheng J* (2018) Transport and interactions of nanoparticles in the kidneys. *Nat Rev Mater* 3: 358–374. <https://doi.org/10.1038/s41578-018-0038-3>
17. *Khan KNM, Hard GC, Alden CL* (2013) Kidney. In: Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology. Elsevier. 1667–1773.

18. *Stolyar SV, Kolenchukova OA, Boldyreva AV, Kudryasheva NS, Gerasimova YV, Krasikov AA, Yaroslavl'tsev RN, Bayukov OA, Ladygina VP, Birukova EA* (2021) Biogenic Ferrihydrite Nanoparticles: Synthesis, Properties In Vitro and In Vivo Testing and the Concentration Effect. *Biomedicines* 9: 323.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines9030323>
19. *Janik-Olchawa N, Drozd A, Ryszawy D, Pudelek M, Planeta K, Setkowicz Z, Sniegocki M, Wytrwal-Sarna M, Gajewska M, Chwiej J* (2021) The influence of IONPs core size on their biocompatibility and activity in in vitro cellular models. *Sci Rep* 11: 21808.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-01237-y>
20. *Chen Y, Hou S* (2023) Recent progress in the effect of magnetic iron oxide nanoparticles on cells and extracellular vesicles. *Cell Death Discov* 9: 195.
<https://doi.org/10.1038/s41420-023-01490-2>
21. *Kopac T* (2021) Protein corona, understanding the nanoparticle–protein interactions and future perspectives: A critical review. *Int J Biol Macromol* 169: 290–301.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.108>
22. *Waris A, Sharif S, Naz S, Manzoor F, Rashid F, Tabassum S, Jamil F, Hussain M, Choi YJ, Park Y-K* (2023) Review on metallic nanoparticles induced toxicity on renal function and overall health of kidneys. *Environment Engin Res* 29: 230549–0.
<https://doi.org/10.4491/eer.2023.549>
23. *Kashgarian M* (2006) The Contribution of Quantitative Techniques Including Morphometry to Renal Diagnosis. *Ultrastruct Pathol* 30: 339–343.
<https://doi.org/10.1080/01913120600932537>
24. *Denic A, Mathew J, Nagineni VV, Thompson RH, Leibovich BC, Lerman LO, Lieske JC, Alexander MP, Augustine JJ, Kremers WK, Rule AD* (2018) Clinical and Pathology Findings Associate Consistently with Larger Glomerular Volume. *J Am Soc Nephrol* 29: 1960–1969.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2017121305>
25. *Asghar MS, Denic A, Rule AD* (2024) Morphometric analysis of chronicity on kidney biopsy: A useful prognostic exercise. *Clin Kidney J* 17(2): sfad226.
<https://doi.org/10.1093/ckj/sfad226>
26. *Hemmi S, Matsumoto N, Jike T, Obana Y, Nakanishi Y, Soma M, Hemmi A* (2015) Proximal tubule morphology in rats with renal congestion: A study involving the in vivo cryotechnique. *Med Mol Morphol* 48: 92–103.
<https://doi.org/10.1007/s00795-014-0084-x>
27. *Denic A, Gaddam M, Moustafa A, Mullan AF, Luehrs AC, Sharma V, Thompson RH, Smith ML, Alexander MP, Lerman LO, Barisoni L, Rule AD* (2023) Tubular and Glomerular Size by Cortex Depth as Predictor of Progressive CKD after Radical Nephrectomy for Tumor. *J Am Soc Nephrol* 34: 1535–1545.
<https://doi.org/10.1681/ASN.0000000000000180>
28. *Balas M, Popescu Din IM, Hermenean A, Cinteza LO, Dinischiotu A* (2021) Exposure to Iron Oxide Nanoparticles Coated with Phospholipid-Based Polymeric Micelles Induces Renal Transitory Biochemical and Histopathological Changes in Mice. *Materials* 14: 2605.
<https://doi.org/10.3390/ma14102605>
29. *Nair AV, Keliher EJ, Core AB, Brown D, Weissleder R* (2015) Characterizing the Interactions of Organic Nanoparticles with Renal Epithelial Cells *in Vivo*. *ACS Nano* 9: 3641–3653.
<https://doi.org/10.1021/acs.nano.5b00428>
30. *Wu L, Wen W, Wang X, Huang D, Cao J, Qi X, Shen S* (2022) Ultrasmall iron oxide nanoparticles cause significant toxicity by specifically inducing acute oxidative stress to multiple organs. *Part Fibre Toxicol* 19: 24.
<https://doi.org/10.1186/s12989-022-00465-y>
31. *Knyazev YuV, Balaev DA, Yaroslavl'tsev RN, Krasikov AA, Velikanov DA, Mikhlin YuL, Volochaev MN, Bayukov OA, Stolyar SV, Iskhakov RS* (2022) Tuning of the Interparticle interactions in ultrafine ferrihydrite nanoparticles. *Advanc Nano Res* 12: 605–616.
32. *Raïkher YuL, Stepanov VI, Stolyar SV, Ladygina VP, Balaev DA, Ishchenko LA, Balasoiu M* (2010) Magnetic properties of biomineral particles produced by bacteria *Klebsiella oxytoca*. *Physics Solid State* 52: 298–305.
<https://doi.org/10.1134/S1063783410020125>
33. *Vandebriel RJ, Vermeulen JP, van Engelen LB, de Jong B, Verhagen LM, de la Fonteyne-Blankestijn LJ, Hoonakker ME, de Jong WH* (2018) The crystal structure of titanium dioxide nanoparticles influences immune activity in vitro and in vivo. *Part Fibre Toxicol* 15: 9.
<https://doi.org/10.1186/s12989-018-0245-5>

Effect of Synthetic and Biogenic Iron Oxide Nanoparticles on Histopathological Parameters of Mouse Kidneys

A. V. Kireeva^a, O. A. Kolenchukova^{b, d}, E. A. Biryukova^{b, #}, and S. V. Stolyar^{a, c}

^aKrasnoyarsk Science Centre of the Siberian Branch of Russian Academy of Science,
Krasnoyarsk, Russia

^bScientific Research Institute of Medical Problems of the North Federal Research Center Krasnoyarsk
Science Centre of the Siberian Branch of Russian Academy of Science, Krasnoyarsk, Russia

^cSiberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

^dKrasnoyarsk state agricultural university, Krasnoyarsk, Russia

[#]e-mail: helena.biryukova.1996@gmail.com

The unique physical, chemical and magnetic properties of iron oxide nanoparticles (INPs) open up wide prospects for the use of nanomaterials in the diagnosis and therapy of various diseases. Despite the high interest from the scientific community, the mechanism of the effect of INPs on the physiology of living organisms has not been fully investigated. This is due to the fact that the toxicity of nanoparticles depends on many factors, including size, synthesis method and the presence of the shell. The research is aimed to investigate the effect of INPs on the morphological structure of the kidneys, depending on the method of synthesis and the presence of a polysaccharide shell after oral administration. In the study was used ferrihydrite INPs of synthetic and biogenic origin. The experiment was conducted on 3 groups of animals (55 mice): Group 1 – control (15 mice), feed without additives; group 2 (20 mice) – experienced, synthetic INPs were introduced into the feed; Group 3 (20 mice) was an experimental group, encapsulated biogenic INPs were introduced into the feed. The collection of biological kidney material for histological examination was carried out on the 1st day and on the 22nd, 36th day after the introduction of INPs into the feed. Histological examination was performed using a standard technique. Staining of histological sections was carried out with hematoxylin-eosin and Perls. The studied morphometric parameters of the kidney were analyzed using the Morphology 7.0 program. As a result of the study, it was found that repeated administration of INPs of both synthetic and biogenic origin is accompanied by hemodynamic disorders in the studied organ, as well as dystrophic and necrotic changes in the cells of the renal parenchyma, leading to the development of renal failure. The most pronounced reactivity is possessed by INPs obtained by the biogenic method, which is probably due to the presence of a polysaccharide shell and the crystalline structure of the iron compound.

Keywords: mice kidneys, ferrihydrite nanoparticles, oral administration; morphometric parameters; histological examination