

Киреева А.В.¹, Коленчукова О.А.^{2,4}, Бирюкова Е.А.², Столляр С.В.^{1,3}

Морфологические и морфометрические характеристики печени при воздействии наночастиц ферригидрита

¹ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», 660036, Красноярск, Россия, Академгородок, д. 50/12, корпус 2;

²ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», 660022, Красноярск, Россия, ул. Партизана Железняка, д. 3-г;

³ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», 660041, Красноярск, Россия, просп. Свободный, д. 79;

⁴ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», 660049, Красноярск, Россия, пр. Мира, д. 90

Введение. Наночастицы ферригидрита являются перспективными объектами для использования в различных биомедицинских целях. Однако, применение наночастиц ферригидрита (НЧФ) связано с вопросами их биобезопасности. Печень – один из критически важных органов, подверженных воздействию наноматериалов. Она играет центральную роль в метаболизме и детоксикации, и её повреждение может привести к серьёзным неблагоприятным последствиям. Поэтому исследование воздействия НЧФ на печень является актуальной и важной задачей. Цель исследования – изучение влияния НЧФ на морфологическую структуру печени в зависимости от способа их синтеза после перорального введения.

Методика. Эксперимент проводился на 3-х группах лабораторных мышей (самцы, $n=55$): 1-я группа – контрольная ($n=15$), получала корм без добавок; 2-я группа ($n=20$) – опытная, получала корм с добавлением синтетических НЧФ; 3-я группа ($n=20$) – опытная, получала корм с добавлением биогенных НЧФ. Кормосмесь для опытных групп подготавливали в лабораторном смесителе СЛ-12пнд. Зabor биологического материала осуществляли на 1-е, 22-е и 36-е сутки эксперимента. Образцы печени подготавливали по стандартным гистологическим методикам. Окрашивание срезов производили гематоксилином и эозином и по Перлсу (для выявления наночастиц железа). Морфометрический анализ гистологических препаратов выполнялся в программе «ВидеоТест – Морфология 7.0». Значимость различий между независимыми выборками оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни. Значимость различий между зависимыми выборками оценивали с помощью T-критерия Вилкоксона. Различия считали значимыми от $p<0,05$.

Результаты. Показано, что введение с кормом НЧФ приводит к статистически значимым изменениям морфометрических показателей печени. В опытных группах отмечалось достоверное увеличение диаметра междолльковых вен, на фоне снижения диаметра центральных вен, и выраженное увеличение в обеих группах доли безъядерных гепатоцитов. Так же в печеночной ткани выявлялись воспалительные признаки с различной интенсивностью патологических процессов, что приводило к нарушению компенсаторных возможностей органа.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии на печень НЧФ (как синтетического, так и биогенного происхождения), проявляющемся в виде некробиотических изменений паренхимы печени.

Ключевые слова: печень мыши; наночастицы ферригидрита; пероральное введение; морфометрические показатели; гистологическое исследование

Для цитирования: Киреева А.В., Коленчукова О.А., Бирюкова Е.А., Столляр С.В. Морфологические и морфометрические характеристики печени при воздействии наночастиц ферригидрита. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 32–40.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.32-40

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Столляр С.В.; сбор и обработка материала, анализ и интерпретация данных – Киреева А.В., Бирюкова Е.А., Коленчукова О.А.; написание статьи – Бирюкова Е.А.; редактирование – Коленчукова О.А. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Бирюкова Елена Антоновна, e-mail: helena.biryukova.1996@gmail.com

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Поступила 21.04.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Kireeva A.V.¹, Kolenchukova O.A.^{2,4}, Biryukova E.A.², Stolyar S.V.^{1,3}

Morphological and morphometric characteristics of the liver in exposed to ferrihydrite nanoparticles

¹ Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science, 50/12 Akademgorodok, Bldg. 2, Krasnoyarsk, 660036, Russian Federation;

² Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science, 3G Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation;

³ Siberian Federal University, 79 Svobodnyi Prospekt., Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation;

⁴ Krasnoyarsk State Agricultural University, 90 Prospekt Mira, Krasnoyarsk, 660049, Russian Federation

Introduction. Ferrihydrite nanoparticles (FNPs) are promising for various biomedical applications. However, the use of FNPs is associated with biosafety issues. The liver is one of the critically important organs exposed to nanomaterials. It plays a central role in metabolism and detoxification, and its damage can lead to serious adverse consequences. Therefore, studying effects of FNPs on the liver is a relevant and important task. The aim of the study was to evaluate the effect of FNPs on the liver morphological structure after oral administration, depending on the method of FNP synthesis.

Methods. The experiment was performed on 3 groups of laboratory mice (males, n=55): group 1 (n=15), control that was fed food not supplemented with FNPs; group 2 (n=20), experimental group, was fed food supplemented with synthetic FNPs; group 3 (n=20), experimental group, was fed food supplemented with biogenic FNPs. The feed mixture for the experimental groups was prepared in a laboratory mixer SL-12pnd. Biological material was sampled on days 1, 22, and 36 of the experiment. Liver samples were prepared according to standard histological methods and stained with hematoxylin-eosin, and with Perls Prussian blue to detect iron nanoparticles. The morphometric analysis of liver tissue was performed using the ViodeoTesT-Morphology 7.0 software. The significance of cross-sample differences (p) was assessed using the Mann–Whitney U-test. The significance of differences between dependent samples was assessed using the Wilcoxon T-test. Differences were considered statistically significant at p<0.05.

Results. The administration of FNPs with food leads to statistically significant changes in the morphometric parameters of the liver. In experimental groups 2 and 3, the diameter of the interlobular veins was significantly increased, which was associated with a decrease in the central vein diameter. The proportion of non-nuclear hepatocytes was markedly increased in both groups. Also, the liver tissue showed inflammation signs with varying intensity of pathological processes resulting in the impairment of the liver compensatory capabilities.

Conclusion. The study showed a negative effect of FNPs (both synthetic and biogenic) on the liver manifested in the form of necrobiotic changes in the liver parenchyma.

Keywords: mouse liver; ferrihydrite nanoparticles; oral administration; morphometric parameters; histological examination

For citation: Kireeva A.V., Kolenchukova O.A., Biryukova E.A., Stolyar S.V. Morphological and morphometric characteristics of the liver when effect to ferrihydrite nanoparticles. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 32-40. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.32-40

Author's contribution: concept and design of the study – Stolyar S.V.; collection and processing of material – Kireeva A.V., Biryukova E.A., Kolenchukova O.A.; statistical processing – Kolenchukova O.A.; writing the text – Biryukova E.A.; editing the text – Kolenchukova O.A. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Elena A. Biryukova, Junior Researcher at the laboratory of molecular cellular physiology and pathology of the Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, e-mail: helena.biryukova.1996@gmail.com

Information about the authors:

Kireeva A.V., <https://orcid.org/0000-0001-8134-0899>

Kolenchukova O.A., <https://orcid.org/0000-0001-9552-447X>

Biryukova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-7650-0170>

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 21.04.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

В последние десятилетия, с помощью нанотехнологий были разработаны различные типы частиц нанометрового диапазона, которые активно изучаются в разных направлениях биомедицины [1]. Большое внимание среди неорганических наноматериалов занимают магнитные наночастицы, из которых хорошо изучены частицы оксида железа [2, 3]. Как правило, при лабораторном синтезе наночастиц железа у них отсутствует какое-либо покрытие, и при попадании в организм данные частицы склонны к агрегации [4]. Инкапсуляция наночастиц в различные биосовместимые оболочки может улучшить их коллоидную стабильность и, соответственно, эффективность взаимодействия с клетками [5]. В процессе культивирования бактерия вида *Klebsiella oxytoca* может продуцировать экзополисахарид, который инициирует восстановление ионов металлов и образование высокостабильных инкапсулированных наночастиц оксида железа [6], представляющих ферригидрит, размером 2–7 нм [7].

Благодаря своим свойствам и размерам, наночастицы могут легко проникать в клетки, и перемещаться по тканям и органам. Однако эта способность может вызывать и различные неблагоприятные токсические эффекты [8, 9]. Многие исследования на животных показали, что печень способна накапливать в себе наночастицы оксида железа, но на текущий момент, полного представления об их влиянии на данный орган не сформировано [10, 11].

В связи с этим, целью данного исследования является изучение влияния синтетических и биогенных наночастиц ферригидрита на морфометрическую и морфологическую структуру печени лабораторных мышей при пероральном введении.

Методика

Исследование проведено на мышах-самцах аутбредной популяции ICR, массой 22–24 г, в возрасте 3 мес, полученных в питомнике Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор». Животных содержали в стандартных условиях вивария. Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», принципами Европейской конвенции (г. Страсбург, 1986 г.) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными, 2008 г. Протокол исследования одобрен этическим комитетом (Протокол № 10 от 12.10.2020 ЛЭК ФИЦ КНЦ СО РАН).

В эксперименте было задействовано 55 мышей, разделенных на 3 группы. 1 группа – интактные животные (15 особей), получавшие стандартное кормление в количестве 16 гр. корма «Дельта Фидс Р-22» на одну голову

в сутки. Животным 2-й группы (20 особей) в корм добавляли синтетические НЧФ. Животным 3-й группы (20 особей) в корм добавляли биогенные НЧФ. Корм «Дельта Фидс» предварительно перемешивали с использованием устройства ES-8300 (Экохим, Россия), далее к корму объемом 10 кг добавляли 500 мг сухого золя НЧФ из расчёта 25 мг/кг на одно 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 свободным. Длительность эксперимента составила 36 суток. Кормовую смесь начинали давать с первого дня эксперимента.

Забор образцов для анализа 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).

Образцы синтетического ферригидрита размером ~ 2,5 нм были получены гидролизом нитрата железа (III) [12]. В ходе реакции образовывался темно-коричневый осадок из наночастиц ферригидрита (НЧФ), который впоследствии промывали дистонизированной водой и сушили при комнатной температуре.

Образцы биогенного ферригидрита были получены в процессе культивации бактерий *Klebsiella oxytoca* [13]. Используемые микроорганизмы были выделены из сапропеля озера Боровое (Красноярский край). Бактерии выращивали в среде Лавли на цитрате железа. Для выделения ферригидрита бактериальную биомассу центрифугировали, затем супернатант обрабатывали ультразвуком, промывали дистиллированной водой и 2%-ным раствором NaOH до достижения pH надосадочной жидкости значения равного 8. Таким образом, был получен золь биогенных НЧФ, который впоследствии был высущен при комнатной температуре.

Размер наночастиц ферригидрита, определённый с помощью Zetasizer Nano (Malvern Instruments Ltd., Малверн, Великобритания) в Красноярском научном центре СО РАН, составлял 2–3 нм. Изучение ИК-спектров биогенных наночастиц с помощью Фурье-спектрометра Bruker Vertex 80V (Bruker Elemental GmbH, Германия) показало, что наночастицы биогенного ферригидрита встроены в железосвязывающие экзополисахариды.

Забор биологического материала печени проводили на 1-е, 22-е и 36-е сутки. Образцы печени фиксировали в забуференном 10%-ном формалине HistoSafe (Biovitrum, Россия), затем обрабатывали для обезвоживания на автоматическом тканевом процессоре (Thermo Scientific STP 120, Гер-

мания). Исследуемую ткань помещали в парафиновые блоки с помощью станции заливки (ESD-2800, Россия). Серийные срезы исследуемой ткани толщиной 3 мкм делили с помощью микротома (HM 340E, HistoStar Thermo Scientific, Германия). Окрашивание срезов печени гематоксилином Майера (Biovitrum, Россия) и эозином (Biovitrum, Россия) выполняли на станции автоматической фиксации и окрашивания мазков (АФОМК-16–26 ПРО, Россия). С целью идентификации в тканях ионов Fe^{3+} , которые входят в состав НЧФ, использовали гистохимическую реакцию с ферроцианидом калия (Biovitrum, Россия) по методу Перлса. Микропрепараты анализировали в проходящем свете на микроскопе Axiolab 5 (Carl Zeiss, Германия) с фотосъемкой с помощью цифровой фотокамеры Axiocam 208 color (Carl Zeiss, Германия). Производили микрофотосъемку случайных полей зрения гистологических препаратов печени всех групп при увеличении $\times 100$ и $\times 400$ (не менее 10 полей зрения в каждом гистологическом срезе). Подсчёт гепатоцитов проводили на 100 клетках в 10 полях зрения при $\times 100$. Для морфометрического анализа препаратов печени использовали программное обеспечение «Анализ изображений «ВидеоТесТ-Морфология 7.0» (ВидеоТесТ, Санкт-Петербург). Учитывая, что проводились измерения объектов, аппаратно-программный комплекс был откалиброван с использованием объект-микрометра ОМП (выпущенного по ГОСТ 7513–55 и прошедшего поверку по методике Государственной системы обеспечения единства измерений ГСИ).

В срезе печени определяли следующие морфометрические параметры: 1) диаметр печёночных трабекул (мкм); 2) диаметр синусоидных капилляров (мкм); 3) диаметр центральных вен (мкм); 4) диаметр междольковых вен (мкм); 5) диаметр желчного протока (мкм); 6) площадь гепатоцитов (мкм^2); 7) площадь ядра (мкм^2); 8) площадь цитоплазмы гепатоцитов (мкм^2); 9) процентное количество одноядерных гепатоцитов (%); 10) процентное количество двуядерных гепатоцитов (%); 11) процентное количество безъядерных гепатоцитов (%).

База данных формировалась при помощи программы Microsoft Excel (Microsoft, США). Достоверность различий (p) оценивали между показателями зависимых и независимых выборок с помощью программы Statistica 10.0. Описание выборки производили с учётом нормального распределения с помощью подсчёта среднего результата (M) и ошибки среднего (m). Соответствие распределения нормальному оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Значимость различий между независимыми выборками оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Значимость различий между зависимыми выборками оценивали с помощью T-критерия Вилкоксона. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Полученные данные морфометрических структурных компонентов печени представлены в **таблице 1**. В печени животных 2-й и 3-й групп, при сравнении с группой контроля, на 22-е сутки ширина трабекул была больше в 1,2 ($p < 0,05$) и 1,3 ($p < 0,001$) раза соответственно (**табл. 1**). Синусоиды 2-й группы на 22-е сутки были увеличены в 2,6 ($p < 0,001$) и 1,3 ($p < 0,05$) раза относительно контроля и 3-й группы. Сосуды гемомикроциркулярного русла печени, а именно междольковые вены, имели различный диаметр: у 2-й группы они были увеличены в 1,3 раза ($p < 0,05$), у 3-й в 1,4 раза ($p < 0,05$) относительно контроля. Среди экспериментальных групп, наибольший диаметр центральных вен был у 2-й группы ($p < 0,05$), у 3-й – наименьший ($p < 0,001$) относительно 1 суток и группы контроля. Также выявлено, что диаметр желчных протоков на 22-е сутки увеличен в 3-й группе в 3,2 ($p < 0,05$) раза относительно контроля и 1,6 раза ($p < 0,001$) относительно 2-й группы.

На 36-е сутки у 3-й группы, по сравнению с контролем, отмечалось увеличение ширины трабекул в 1,5 ($p < 0,001$) раза. Во 2-й и 3-й группах относительно контроля так же выявлялось увеличение диаметра синусоидов в 1,7 ($p < 0,001$) и 1,9 ($p < 0,001$) раз соответственно. В 3-й группе снизился диаметр центральных вен ($p < 0,05$) относительно контроля. Диаметр желчных протоков во 2-й и 3-й группах был достоверно увеличен относительно контроля в 2,4 ($p < 0,05$) и 3,5 ($p < 0,001$) раза.

На 22-е сутки в обеих опытных группах отмечалось умеренное венозное полнокровие сосудов, рыхлые стенки кровеносных сосудов и набухший эндотелий сосудов. Балочное строение печени нарушено. Гепатоциты с признаками некробиотических изменений, где отмечалось разрушение клеточной мембранны (периферический цитолиз) – что свидетельствует о некрозе клеток (**рис. 1, а/а**). В синусоидах отмечали лейкостазы, увеличенные клетки Купфера. В крупных портальных трактах отмечали лимфогистиоцитарную инфильтрацию. В мелких портальных трактах – точечные очаги некроза (**рис. 1, в/с**). Реакция по Перлсу положительная, при этом отмечаются единичные макрофаги, имеющие Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме (**рис. 1, б/б**). В 3-й группе, где животные получали биогенные НЧФ, отмечались множественные макрофаги, имеющие Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме, распространяющиеся по паренхиме печени (**рис. 1 г/д**). В синусоидах отмечается содержание клеточного детрита, клеток крови и увеличение клеток Купфера, как в количестве, так и в размерах. В перипортальной зоне преобладали гепатоциты небольших размеров и двуядерные клетки.

Таблица 1/Table 1

Морфометрические параметры печени мышей при добавлении в корм железосодержащих наночастиц ферригидрита синтетического и биогенного происхождения, $M \pm m$

Morphometric parameters of the mouse liver after fodder supplementation with synthetic and biogenic ferrihydrite nanoparticles, $M \pm m$

Параметр Parameter	1 группа (контроль) Group 1 (control)			2 группа (синтетические НЧФ) Group 2 (synthetic FNPs)		3 группа (биогенные НЧФ) Group 3 (biogenic FNPs)	
	1-е сутки 1 day (n=5)	22-е сутки 22 days (n=5)	36-е сутки 36 days (n=5)	22-е сутки 22 days (n=10)	36-е сутки 36 days (n=10)	22-е сутки 22 days (n=10)	36-е сутки 36 days (n=10)
Ширина трабекул, мкм / Width of trabeculae, μm	12,4±1,2	14,1±1,5	15,6±1,9	16,4±2,8 ^{*1, *22}	20,3±6,1 ^{*1}	18,0±1,0 ^{*1, *22}	23,6±3,2 ^{*36}
Диаметр синусоиды, мкм / Diameter of the sinusoids, μm	4,4±0,8	2,5±0,5	3,5±0,6	6,4±1,0 ^{*1, *22}	6,1±0,7 ^{*1, *36}	5,1±1,5 ^{*22, #22}	6,7±1,5 ^{*36}
Диаметр центральной вены, мкм / Diameter of the central vein, μm	74,8±14,1	70,3±21,0	62,4±18,1	62,3±23,4 ^{*1}	55,8±17,7 ^{*1}	60,9±16,6 ^{*1}	62,5±12,7 ^{*1, *36}
Диаметр междольковых вен, мкм / Diameter of the interlobular veins, μm	42,4±14,0	44,0±18,0	43,0±18,1	56,5±18,1 ^{*22}	62,2±20,3	59,5±20,6 ^{*22}	60,8±18,0 ^{#22}
Диаметр желчных протоков, мкм / Diameter of the bile ducts, μm	6,8 ±1,3	5,1±3,6	5,7±2,4	10,4±3,3	13,4±3,6 ^{*1, *36}	16,5±2,4 ^{*22, #22}	19,7±4,5 ^{*36, #36}

Примечание. Значимость различий по сравнению с показателями группы контроля: ^{*1}($p<0,05$) на 1-е сут эксперимента, ^{*22}($p<0,05$) на 22-е сутки эксперимента, ^{*36}($p<0,05$) на 36 сутки эксперимента; Значимость различий по сравнению с показателями 2-й группы: ^{#22}($p<0,05$) на 22-е сутки эксперимента, ^{*36}($p<0,05$) на 36-е сутки эксперимента; n – число животных; НЧФ – наночастицы ферригидрита.

Note. The significance of the differences compared with the indicators of the control group: ^{*1}($p<0,05$) on the 1st day of the experiment, ^{*22}($p<0,05$) on the 22nd day of the experiment, ^{*36}($p<0,05$) on the 36th day of the experiment; The significance of the differences compared with the indicators of the 2nd group: ^{#22}($p<0,05$) on the 22nd day of the experiment, ^{*36}($p<0,05$) on the 36th day of the experiment; n – the number of animals; FNPs – ferrihydrite nanoparticles.

При морфологическом исследовании печени на 36-е сутки эксперимента у животных в обеих группах отмечалось венозное полнокровие и нарушение балочного строения (рис. 2, а/а). В синусоидах отмечается содержание клеточного детрита, клеток крови и увеличение клеток Купфера, как в количестве, так и в размерах (рис. 2, б/б). В перипортальной зоне преобладали гепатоциты небольших размеров и двуядерные. Чем дальше от перипортальной зоны и ближе к центрилобулярной зоне отмечались неравномерно выраженные очаги некробиотически изменённых гепатоцитов в виде зернистой и гидропической дистрофии, так клетки увеличивались в объёме, цитоплазма была заполнена вакуолями, содержащими прозрачную жидкость, ядра смещались на периферию, границы цитоплазмы клеток стирались (рис. 2, г/д). Вокруг портальных трактов отмечалась лимфогистиоцитарная инфильтрация (рис. 2, а/а; в/с).

Реакция по Перлсу положительная в обеих экспериментальных группах (рис. 2, д/е; е/ф). При этом во 2-й группе отмечалось скопление вокруг центральных вен множества макрофагов, нагруженных Перлс-позитивными гранулами. В 3-й группе, по сравнению со 2-й отмечались выраженные

некробиотические изменения паренхимы печени: нарушение гистоархитектоники ткани, полнокровие сосудов печени. Портальные тракты с признаками деструкции: стеки артерий и вен утолщены, эндотелий сосудов набухший, рыхлый. Вокруг портальных трактов мелкие очаги некроза. Гепатоциты с признаками гидропической дистрофии.

Морфометрические показатели по фракционному составу гепатоцитов печени приведены в таблице 2. На 22-е сутки во 2-й и 3-й группах наблюдалось увеличение общей площади гепатоцитов в 1,4 ($p<0,001$) и 1,3 ($p<0,05$) раза относительно контроля. Площадь ядер и цитоплазмы гепатоцитов во 2-й группе увеличилась относительно контроля в 1,4 раза ($p<0,05$). При количественной оценке одноядерных, двуядерных и некротизированных гепатоцитов выявлено, что на 22-е сутки относительно контроля, доля одноядерных клеток во 2-й группе снижалась на 13% ($p<0,001$), количество двуядерных клеток снижалось на 12% ($p<0,05$) во 2-й группе и на 11% ($p<0,001$) в 3-й группе, доля некротизированных гепатоцитов увеличилась на 22% ($p<0,001$) во 2-й и на 13% ($p<0,001$) в 3-й группе. В 3-й группе, относительно 2-й, доля одноядерных гепатоцитов увеличилась на 7% ($p<0,05$).

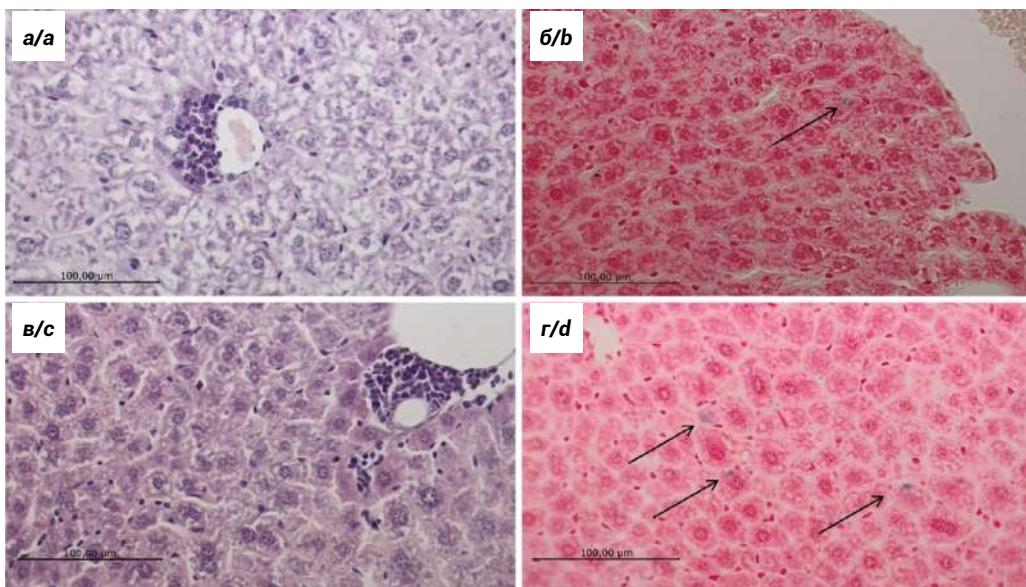


Рис. 1. Гистологическая характеристика печени мышей на 22-е сутки. Окрашивание гематоксилином-эозином (а, в) и по Перлсу (б, г), ×400. а (2-я группа) – гепатоциты с признаками некробиоза, анизоцитоз гепатоцитов, мелкий очаг некроза портального тракта, увеличенные клетки Купфера; б (2-я группа) – единичные Перлс-позитивные клетки (черная стрелка); в (3-я группа) – мелкие очаги некроза вокруг портальных трактов, зернистая дистрофия гепатоцитов, увеличенные клетки Купфера; г (3-я группа) – множественные единичные Перлс-позитивные клетки (черные стрелки).

Fig. 1. Histological characteristics of the liver of mice on day 22. Hematoxylin-eosin (a, c) and Perls staining (b, d), ×400. a (group 2) – hepatocytes with signs of necrobiosis, hepatocyte anisocytosis, small foci of portal tract necrosis, enlarged Kupffer cells; b (group 2) – single Perls-positive cells (black arrow); c (group 3) – small foci of necrosis around the portal tracts, cloudy degeneration of hepatocytes, enlarged Kupffer cells; d (group 3) – multiple single Pearl-positive cells (black arrows).

На 36-е сутки в 3-й группе, относительно контроля и 2-й группы, площадь гепатоцитов увеличивалась в 1,7 ($p<0,001$) и 1,4 ($p<0,05$) раза, площадь ядер гепатоцитов также возрастала в 1,7 ($p<0,05$) и 1,3 ($p<0,05$), площадь цитоплазмы увеличивалась в 2,1 ($p<0,001$) и в 1,4 ($p<0,05$) раза. Доля некротизированных гепатоцитов была повышена на 19% ($p<0,001$) относительно контроля.

Обсуждение

В результате исследования в печени животных 2-й группы, получавших с кормом синтетические НЧФ, на 22-е сут наблюдалась гемодинамические нарушения: гиперемия центральных и междольковых вен, изменение структуры стенок кровеносных сосудов, расширение синусоидных капилляров и наличие в них лейкостазов. Инфильтрацию гистиоцитами, лейкоцитами, лимфоцитами и плазматическими клетками можно рассматривать как реализацию защитных клеточных механизмов организма. Результаты исследования фракционного состава морфологических форм гепатоцитов показали увеличение процента безъядерных клеток, снижение процента двуядерных и увеличение размера общей площади печеночной клетки. Причиной выявленных изменений в органе, вероят-

но, является воспалительный процесс, возникающий при попадании наночастиц в кровоток. Наличие единичных макрофагов в паренхиме печени, имеющих Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме, объясняется накоплением гепатоцитами гемосидерина в результате нарушения метаболизма ферритина, вызванного избыточным поступлением синтетических НЧФ.

На 36-е сутки во 2-й группе выявлялось нарушение гистоархитектоники печеночной ткани: гемодинамические нарушения и признаки гидропической дистрофии паренхимы. Скопление макрофагов, имеющих Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме вокруг центральных вен, позволяет говорить о накоплении НЧФ синтетического происхождения и их патологическом воздействии в виде нарушения структуры кровеносных сосудов, что приводит к замедлению оттока крови из печени.

В печени животных 3-й группы, получавших перорально вместе с кормом биогенные НЧФ, на 22-е сутки наблюдали такие же морфометрические изменения в органе, как у 2-й группы на 22-е сутки. При этом в паренхиме печени также отмечались множественные макрофаги, имеющие Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме. Множественное накопление Перлс-позитивных макрофагов в печени жи-

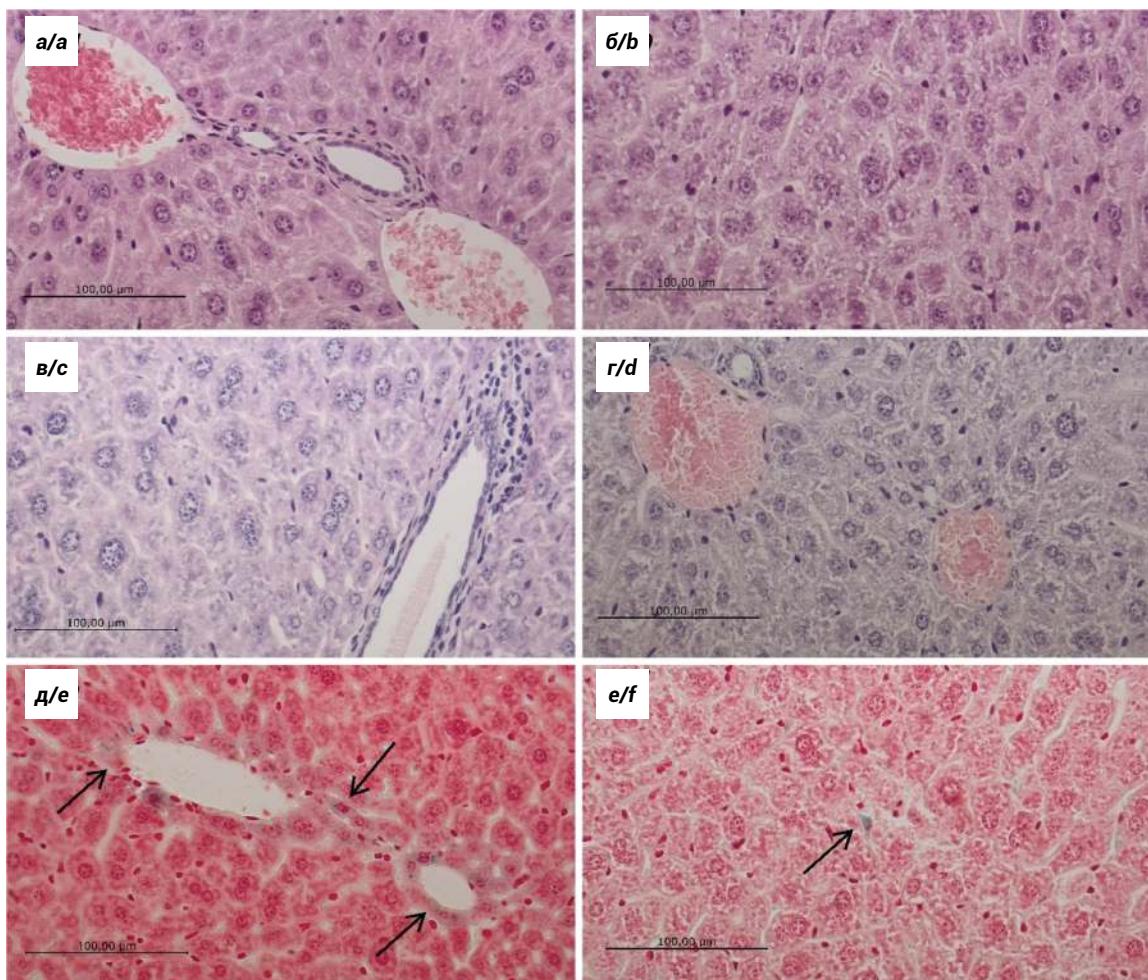


Рис. 2. Гистологическая характеристика печени мышей на 36-е сут. Окрашивание гематоксилином-эозином (а – г) и по Перлсу (д, е), $\times 400$. а (2 группа) – кровенаполнение венозных сосудов печени, лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов; б (2-я группа) – некробиотически измененные гепатоциты, анизоцитоз гепатоцитов, в синусоидах увеличенные клетки Купфера, клетки крови, клеточный детрит; в (3-я группа) – лимфогистиоцитарная инфильтрация вокруг портального тракта, гепатоциты с признаками зернистой дистрофии, анизоцитоз гепатоцитов. В синусоидах увеличенные клетки Купфера, клетки крови; г (3-я группа) – кровенаполнение венозных сосудов, некробиотически измененные гепатоциты; д (2-я группа) – вокруг центральных вен отмечаются множественные Перлс-положительные клетки (черные стрелки); е (3-я группа) – единичные Перлс-положительные клетки (черная стрелка).

Fig. 2. Histological characteristics of the liver of mice on day 36. Hematoxylin-eosin (a – d) and Perls (e, f) staining, $\times 400$. a (group 2) – blood filling of the venous vessels of the liver, lymphohistiocytic infiltration of the portal tracts; b (group 2) – necrobiotic altered hepatocytes, hepatocyte anisocytosis, enlarged Kupffer cells in sinusoids, blood cells, cellular detritus; c (group 3) – lymphohistiocytic infiltration around the portal tract, hepatocytes with signs of cloudy degeneration, anisocytosis of hepatocytes. The sinusoids have enlarged Kupffer cells, blood cells; d (group 3) – blood filling of venous vessels, necrobiotically altered hepatocytes; e (group 2) – multiple Pearl-positive cells are noted around the central veins (black arrows); f (group 3) – single Pearl-positive cells (black arrow).

вотных 3-й группы иллюстрирует динамику процесса поглощения НЧФ из сосудистого русла. При этом отмечаются морфологические изменения в гепатоцитах, которые могут быть вызваны как непосредственным влиянием НЧФ на клетки, так и опосредованно – через активацию образования свободных радикалов (вследствие воздействия НЧФ), что приводит к нарушению метаболизма клеток [14, 15].

На 36-е сутки, в 3-й группе отмечались нарушения гистоархитектоники органа, характеризующиеся выраженным некробиотическими изменениями паренхимы печени. Результаты исследования фракционного состава морфологических форм гепатоцитов показали снижение процента двуядерных и одноядерных гепатоцитов, а также высокий процент безъядерных клеток одновременно с увеличени-

Таблица 2/Table 2

Фракционный состав морфологических форм гепатоцитов у мышей при добавлении в корм железосодержащих наночастиц ферригидрита синтетического и биогенного происхождения, $M \pm m$

Fractional content of morphological forms of hepatocytes of the mouse after fodder supplementation with synthetic and biogenic ferrihydrite nanoparticles, $M \pm m$

Параметр Parameter	1 группа (контроль) Group 1 (control)			2 группа (синтетические НЧФ) Group 2 (synthetic FNPs)		3 группа (биогенные НЧФ) Group 3 (biogenic FNPs)	
	1-е сутки 1 day (n=5)	22-е сутки 22 days (n=5)	36-е сутки /36 days (n=5)	22-е сутки 22 days (n=10)	36-е сутки 36 days (n=10)	22-е сутки 22 days (n=10)	36-е сутки 36 days (n=10)
Общая площадь клетки, мкм^2 / Total area of the cell, μm^2	266,0 \pm 32,0	333,3 \pm 51,0	369,2 \pm 62,3	453,9 \pm 48,8 ^{*22}	446,6 \pm 140,8 ^{*1}	421,1 \pm 40,2 ^{*22}	618,0 \pm 79,0 ^{*36, #36}
Площадь ядра, мкм^2 / The area of the nucleus, μm^2	44,8 \pm 4,5	48,9 \pm 9,9	52,6 \pm 24,0	67,2 \pm 13,2 ^{*22}	68,8 \pm 18,3 ^{*1}	61,5 \pm 14,5 ^{*1}	88,0 \pm 12,7 ^{*36, #36}
Площадь цитоплазмы, мкм^2 / Cytoplasm area, μm^2	221,0 \pm 29,5	284,4 \pm 44,3	251,3 \pm 80,8	410,7 \pm 76,4 ^{*22}	377,8 \pm 125,3 ^{*1}	378,0 \pm 124,4 ^{*1}	529,8 \pm 69,1 ^{*36, #36}
Одноядерные гепатоциты, % / Mononucleated hepatocytes, %	43,7 \pm 8,0	44,9 \pm 5,0	45,5 \pm 13,9	31,8 \pm 2,4 ^{*22}	38,5 \pm 2,4	39,5 \pm 4,7 ^{#22}	35,7 \pm 4,7
Двуядерные Гепатоциты, % / Binucleated hepatocytes, %	20,1 \pm 6,3	22,7 \pm 6,2	25,8 \pm 27,2	11,1 \pm 6,5 ^{*22}	14,8 \pm 5,5	11,3 \pm 4,8 ^{*22}	10,6 \pm 3,6 ^{*1}
Безъядерные Гепатоциты, % / Non-nuclear hepatocytes, %	28,1 \pm 7,5	33,9 \pm 1,3	30,3 \pm 7,9	55,4 \pm 6,2 ^{*22}	44,7 \pm 5,5 ^{*36}	47,1 \pm 4,7 ^{*22, #22}	48,9 \pm 9,0 ^{*36}

Примечание. Значимость различий по сравнению с показателями группы контроля: ^{*1}($p<0,05$) на 1-е сут эксперимента, ^{*22}($p<0,05$) на 22-е сутки эксперимента, ^{*36}($p<0,05$) на 36 сутки эксперимента; Значимость различий по сравнению с показателями 2-й группы: ^{#22}($p<0,05$) на 22-е сут эксперимента, ^{#36}($p<0,05$) на 36-е сут эксперимента; n – число животных; НЧФ – наночастицы ферригидрита.

Note. The significance of the differences compared with the indicators of the control group: ^{*1}($p<0.05$) on the 1st day of the experiment, ^{*22}($p<0.05$) on the 22nd day of the experiment, ^{*36}($p<0.05$) on the 36th day of the experiment; The significance of the differences compared with the indicators of the 2nd group: ^{#22}($p<0.05$) on the 22nd day of the experiment, ^{#36}($p<0.05$) on the 36th day of the experiment; n – the number of animals; FNPs – ferrihydrite nanoparticles.

ем общей площади клеток гепатоцитов. Увеличение общей площади клеток неповрежденных гепатоцитов за счет увеличения ядер и цитоплазмы позволяет говорить о полипloidии. Это указывает на процесс, направленный на улучшение функции неповрежденных гепатоцитов. Полипloidия позволяет в несколько раз увеличить экспрессию некоторых генов и тем самым усилить определенные метаболические функции неповрежденных гепатоцитов [16]. На 36-е сутки отмечались единичные макрофаги, имеющие Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме, в паренхиме печени. Это наблюдение отмечается и в других работах, где так же выявляется провоспалительный эффект с изменением метаболизма в эндотелиальных клетках [17] и увеличением уровней аланин- и аспартатаминотрансфераз в плазме, что вызвано повреждением гепатоцитов [18].

Результаты, полученные в 3-й группе, свидетельствуют о том, что инкаспулация НЧФ в полисахаридную оболочку не позволяет избавиться от отмечающихся выраженных воспалительных признаков при его воздействии. Все это приводит к значительному снижению количества нормально функционирующих гепатоцитов. Нельзя исключать возможность утраты полисахаридной оболочки

биогенных НЧФ, что повышает интенсивность протекания свободнорадикальных реакций. Выявление в печени макрофагов, имеющих в цитоплазме Перлс-позитивные гранулы, доказывает вовлеченность органа в фармакокинетику НЧФ.

Обнаруженное нами увеличение диаметра желчных протоков может указывать как на выведение НЧФ из печени через желчные пути, так и на нарушение оттока желчи и развитие гипертензии в желчевыводящих путях в результате отека сфинктера Одди под влиянием НЧФ, содержащихся в пище.

Заключение

Таким образом, проведённые исследования показали, что используемые НЧФ синтетического и биогенного происхождения при многократном пероральном введении в организм приводят к паренхиматозным (с повреждением клеток) и стромально-сосудистым (повреждение стромы и стенок сосудов) нарушениям различной интенсивности в тканях печени. Наиболее выраженные патоморфологические изменения в печени, наблюдались у животных, употреблявших пищу с НЧФ биогенного способа получения.

Литература**(п.п. 1–5; 7–12; 14; 15; 17; 18 см. References)**

6. Столляр С.В., Ладыгина В.П., Болдырева А.В., Коленчукова О.А., Воротынов А.М., Байрманн М.Ш. и др. Синтез, свойства и тестирование биогенных наночастиц ферригидрита *in vivo*. *Известия Российской академии наук. Серия физическая*. 2020; 84(11): 1601–04. <https://doi.org/10.31857/S0367676520110290>
13. Ладыгина В.П., Пуртов К.В., Столляр С.В., Исхаков Р.С., Баюков О.А., Гуревич Ю.Л. и др. Способ получения наночастиц ферригидрита. Патент Российской Федерации RU2457074C1. 24.03.2011.
16. Андреев В.П., Цыркунов В.М., Кравчук Р.И. Клиническая морфология печени: ядерный аппарат гепатоцитов. *Гепатология и гастроэнтерология*. 2020; 4(2): 126–42. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142>

References

1. Khan U.A., Chen L., Ge G. Recent development for biomedical applications of magnetic nanoparticles. *Inorganic Chemistry Communications*. 2021; 134: 108995. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108995>
2. Meng Y.Q., Shi Y.N., Zhu Y.P., Liu Y.Q., Gu L.W., Liu D.D., et al. Recent trends in preparation and biomedical applications of iron oxide nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology*. 2024; 22: 24. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02235-0>
3. Shen S., Huang D., Cao J., Chen Y., Zhang X., Guo S., et al. Magnetic liposomes for light-sensitive drug delivery and combined photothermal-chemotherapy of tumors. *Journal of Materials Chemistry B*. 2019; 7(7): 1096–106. <https://doi.org/10.1039/C8TB02684J>
4. Samrot A.V., Sahithya C.S., Selvarani A.J., Purayil S.K., Ponnaiah P. A review on synthesis, characterization and potential biological applications of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*. 2021; 4: 100042. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2020.100042>
5. Aboushoureh S., Alshammari W., Darwesh R., Elbaily N. Toxicity and biodistribution assessment of curcumin-coated iron oxide nanoparticles: Multidose administration. *Life Sciences*. 2021; 277: 119625. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119625>
6. Stolyar S.V., Ladygina V.P., Boldyreva A.V., Kolenchukova O.A., Vorotynov A.M., Bairman M.S., et al. Synthesis, Properties, and *in vivo* Testing of Biogenic Ferrihydrite Nanoparticles. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya fizicheskaya*. 2020; 84(11): 1366–9. <https://doi.org/10.31857/S0367676520110290> (in Russian)
7. Sathiyaranayanan G., Dineshkumar K., Yang Y.H. Microbial exopolysaccharide-mediated synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Critical Reviews in Microbiology*. 2017; 43(6): 731–52. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1306689>
8. Wu L., Wen W., Wang X., Huang D., Cao J., Qi X., et al. Ultrasmall iron oxide nanoparticles cause significant toxicity by specifically inducing acute oxidative stress to multiple organs. *Particle and Fibre Toxicology*. 2022; 19: 24. <https://doi.org/10.1186/s12989-022-00465-y>
9. Kireeva A.V., Kolenchukova O.A., Biryukova E.A., Stolyar S.V. Effect of synthetic and biogenic iron oxide nanoparticles on histopathological parameters of mouse kidneys. *J Evol Biochem Phys*. 2025; 61: 261–72. <https://doi.org/10.1134/S0022093025010211>
10. Singh S.P., Rahman M.F., Murty U.S., Mahboob M., Grover P. (2013) Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2013; 266(1): 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.10.016>
11. Garcia-Fernandez J., Turiel D., Bettmer J., Jakubowski N., Panne U., Rivas Garcia L., et al. *In vitro* and *in situ* experiments to evaluate the biodistribution and cellular toxicity of ultrasmall iron oxide nanoparticles potentially used as oral iron supplements. *Nanotoxicology*. 2020; 14(3): 388–403. <https://doi.org/10.1080/17435390.2019.1710613>
12. Stolyar S.V., Yaroslavtsev R.N., Bayukov O.A., Balaev D.A., Krasikov A.A., Iskhakov R.S., et al. Preparation, structure and magnetic properties of synthetic ferrihydrite nanoparticles. *Journal of Physics: Conference Series*. 2018; 994(1): 012003. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/994/1/012003>
13. Ladygina V.P., Purtov K.V., Stolyar S.V., Iskhakov R.S., Bayukov O.A., Gurevich Y.L., et al. Method of producing ferrihydrite nanoparticles. [Sposob polucheniya nanochastits ferrigidrita]. Patent RU2457074C1, RF; 2011. (in Russian)
14. Stolyar S.V., Kolenchukova O.A., Boldyreva A.V., Kudryasheva N.S., Gerasimova Y.V., Krasikov A.A., et al. Biogenic ferrihydrite nanoparticles: synthesis, properties *in vitro* and *in vivo* testing and the concentration effect. *Biomedicines*. 2021; 9(3): 323. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030323>
15. Aboulhoda B.E., Othman D.A., Rashed L.A., Alghamdi M.A., Esawy A.E.W.E. Evaluating the hepatotoxic versus the nephrotoxic role of iron oxide nanoparticles: One step forward into the dose-dependent oxidative effects. *Helijon*. 2023; 9(11): e21202. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21202>
16. Andreev V.P., Tsyrkunov V.M., Kravchuk R.I. Clinical liver morphology: nuclear apparatus of hepatocytes. *Gepatologiya i gastroenterologiya*. 2020; 4(2): 126–42. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142> (in Russian)
17. Tyumentseva A., Khilazheva E., Petrova V., Stolyar S. Effects of iron oxide nanoparticles on the gene expression profiles of cerebral endothelial cells and astrocytes. *Toxicology in Vitro*. 2024; 98: 105829. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2024.105829>
18. Mohamed E.K., Fathy M.M., Sade, N.A., Eldosoki D.E. The effects of rutin coat on the biodistribution and toxicities of iron oxide nanoparticles in rats. *Journal of Nanoparticle Research*. 2024; 26: 49. <https://doi.org/10.1007/s11051-024-05949-w>

Сведения об авторах:

Киреева Анна Валерьевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Международного научного центра исследования экстремальных состояний организма ФИЦ КНЦ СО РАН, e-mail: lampal15@bk.ru;

Коленчукова Оксана Александровна, доктор биол. наук, доцент, зав. каф. эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Красноярский ГАУ; вед. науч. сотр. лаб. клеточно-молекулярной физиологии и патологии «НИИ медицинских проблем Севера» ФИЦ КНЦ СО РАН, e-mail: kalina-chyikova@mail.ru;

Бирюкова Елена Антоновна, мл. науч. сотр. лаб. клеточно-молекулярной физиологии и патологии «НИИ медицинских проблем Севера» ФИЦ КНЦ СО РАН, e-mail: helena.biryukova.1996@gmail.com;

Столяр Сергей Викторович, доктор физ.-мат. наук, доцент, нач. Международного научного центра исследований экстремального состояния организма, ФИЦ КНЦ СО РАН; проф. каф. общей физики Института инженерной физики и радиоэлектроники СФУ, e-mail: stol@iph.krasn.ru