

Хакимов А.Р.¹, Фёдорова А.М.², Лебедева А.И.¹**Морфометрическая характеристика клеток печени эмбрионов крыс на фоне воздействия наночастиц диоксида титана в антенатальный период развития**¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450008, Уфа, Россия, ул. Ленина, д. 3;²ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», 450076, Уфа, Россия, ул. Заки Валиди, д. 32

Введение. Пищевая добавка E171 (TiO₂) применяется в пищевой и лакокрасочной промышленности как белый пигмент благодаря химической стабильности. Ранее считавшийся безопасным, TiO₂ в форме наночастиц (НЧ) вызывает опасения из-за способности проникать через биологические барьеры и накапливаться в тканях эмбриона, что может приводить к эмбриотоксическим эффектам. **Цель** исследования: изучить морфометрические характеристики клеток печени эмбрионов крыс Wistar при воздействии НЧ TiO₂ в антенатальный период.

Методика. Для подготовки суспензии TiO₂ использовали ультразвуковую обработку в дистиллированной воде. В исследовании участвовали 12 самок крыс Wistar (вес 210–250 г), разделенных на опытную (n=7) и контрольную (n=5) группы. Опытной группе перорально вводилась суспензия НЧ TiO₂ рутильной модификации (размер частиц 30–50 нм) в течение 14 дней до гестации и во время беременности. Контрольная группа получала физраствор (0,9% NaCl). Эвтаназия самок проводилась внутрибрюшинным введением хлоралгидрата (400 мг/кг). Эмбрионы (опытная группа – 28, контрольная – 19) извлекались на 15-й и 20-й дни гестации. Печень эмбрионов фиксировалась в 10% формалине, обезживалась и заливалась в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Морфометрический анализ выполнялся с помощью светооптического микроскопа и программы QuPath 0.5.1. Подсчет клеток проводился в 10 полях зрения (ув. 100). Статистическая обработка данных осуществлялась в программе STATISTICA 13.5 с использованием критерия Манна–Уитни (p<0,05).

Результаты. На 15-й день гестации статистически значимых различий в морфометрических показателях печени эмбрионов опытной и контрольной групп не выявлено. На 20-й день в опытной группе число гепатоцитов снизилось на 18%, их площадь – на 20%, а число макрофагов увеличилось на 372% (p<0,05). Зафиксированы апоптоз гепатоцитов и макрофагальная инфильтрация.

Заключение. Воздействие НЧ TiO₂ вызывает нарушения развития печени эмбрионов на поздних стадиях гестации, проявляющиеся в снижении числа гепатоцитов, изменении их морфометрических характеристик и усилении макрофагальной инфильтрации, что указывает на гепатотоксичность и потенциальные риски для развивающегося организма.

Ключевые слова: наночастица; диоксид титана; печень; эмбрион; крыса; гепатоцит; звёздчатый макрофаг

Для цитирования: Хакимов А.Р., Фёдорова А.М., Лебедева А.И. Морфометрическая характеристика клеток печени эмбрионов крыс на фоне воздействия наночастиц диоксида титана в антенатальный период развития. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(2): 70–78.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.70-78

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Фёдорова А.М.; сбор и обработка материала, подготовка иллюстративного материала, статистическая обработка материала, написание текста – Хакимов А.Р.; редактирование, утверждение окончательного варианта статьи – Фёдорова А.М., Лебедева А.И. Ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Хакимов Альберт Рузилевич, e-mail: shershakov2015a@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.01.2025

Принята к печати 20.03.2025

Опубликована 20.06.2025

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.70-78

Khakimov A.R.¹, Fedorova A.M.², Lebedeva A.I.¹**Morphometric characteristics of hepatocyte cells of rat embryos during the exposure to titanium dioxide nanoparticles in the prenatal period of development**¹Bashkir State Medical University, 3 Lenin St., Ufa, 450008, Russian Federation;²Ufa University of Science and Technology, 32 Zaki Validi St., Ufa, 450076, Russian Federation

Introduction. The food supplement E171 (titanium dioxide, TiO_2) is widely used in the food and paint industries as a white pigment due to its chemical stability. Previously considered safe, TiO_2 in the form of nanoparticles (NPs) raises concerns due to its ability to penetrate biological barriers and accumulate in embryonic tissues, potentially leading to embryo-toxic effects. **Aim.** To investigate the morphometric characteristics of liver cells in Wistar rat embryos when exposed to TiO_2 NPs during the antenatal period.

Methods. The TiO_2 suspension was prepared using ultrasonic treatment in distilled water. The study included 12 female Wistar rats (weight 210–250 g) divided into the experimental ($n=7$) and control ($n=5$) groups. The experimental group was orally administered a suspension of rutile TiO_2 NPs (particle size 30–50 nm) for 14 days prior to gestation and during pregnancy. The control group received a 0.9% NaCl solution. Euthanasia of the females was performed by intraperitoneal injection of chloral hydrate (400 mg/kg). Embryos (experimental group, 28; control group, 19) were isolated on the 15th and 20th days of gestation. The embryonic liver was fixed in 10% formalin, dehydrated, and embedded in paraffin. Sections (5 μm) were stained with hematoxylin and eosin. Morphometric analysis was conducted with a light microscope and the QuPath 0.5.1 software. Cells were counted in 10 fields of view (magnification $\times 100$). Statistical analysis was performed using STATISTICA 13.5 with the Mann–Whitney test ($p < 0.05$).

Results. On the 15th day, no statistically significant differences in morphometric parameters were observed. On the 20th day, the experimental group showed an 18% reduction in hepatocyte count, a 20% decrease in their area, and a 372% increase in macrophage count ($p < 0.05$). Hepatocyte apoptosis and macrophage infiltration were noted.

Conclusion. Exposure to TiO_2 NPs disrupts the liver development in embryos at later stages of gestation evident as a reduced hepatocyte count, altered morphometric characteristics, and increased macrophage infiltration, which indicated hepatotoxicity and potential risks to the developing organism.

Keywords: nanoparticle; titanium dioxide; liver; embryo; rat; hepatocyte; stellate macrophage

For citation: Khakimov A.R., Fedorova A.M., Lebedeva A.I. Morphometric characteristics of hepatocyte cells of rat embryos during the exposure to titanium dioxide nanoparticles in the prenatal period of development. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(2): 70–78. (in Russian). DOI:10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.70-78

Author's contribution: concept and design of the study – Fedorova A.M.; collection and processing of material, preparation of illustrative material, statistical processing, writing the text – Khakimov A.R.; editing the text – Fedorova A.M., Lebedeva A.I.; approval of the final version of the article – Fedorova A.M., Lebedeva A.I. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: **Albert R. Khakimov**, Junior researcher, Laboratory of visual neurophysiology of the Bashkir State Medical University "Russian Center for Eye and Plastic Surgery", e-mail: shershakov2015a@mail.ru

Information about the authors:Khakimov A.R., <https://orcid.org/0009-0001-9667-1516>Fedorova A.M., <https://orcid.org/0000-0003-4911-3981>Lebedeva A.I., <https://orcid.org/0000-0002-9170-2600>**Financing.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received: 15.01.2025

Accepted: 20.03.2025

Published: 20.06.2025

Введение

В последние десятилетия нанотехнологии получили широкое распространение в различных отраслях промышленности, включая пищевую, фармацевтическую, косметическую и лакокрасочную индустрии. Одним из наиболее часто используемых наноматериалов является диок-

сид титана (TiO_2), который благодаря своим уникальным свойствам – химической стабильности, инертности и высокому показателю преломления – применяется в производстве пищевых добавок (E171), красок, пластиков, бумаги и косметики [1–3].

Изначально TiO_2 считался практически безопасным для организма человека и животных. Однако современ-

ные исследования ставят под сомнение его инертность, особенно в нанодисперсной форме [4]. Наночастицы (НЧ) TiO_2 обладают большей активностью и токсичностью по сравнению с крупнодисперсными частицами, что обусловлено их малым размером, увеличенной удельной поверхностью и способностью проникать через биологические барьеры [5–7]. Наибольшую опасность представляет анатазная форма TiO_2 , которая, как показали исследования, может быть в 100 раз токсичнее стабильной рутильной формы [8].

Экспериментальные исследования на грызунах подтвердили, что воздействие НЧ TiO_2 вызывает окислительный стресс [8, 9], воспалительные процессы, повреждения нервной системы и когнитивные нарушения [10, 11]. Особенно актуальной становится проблема влияния НЧ TiO_2 на организм в антенатальный период развития, когда органы и системы плода наиболее уязвимы к токсическим воздействиям. НЧ способны преодолевать плацентарный барьер, что приводит к их накоплению в тканях эмбриона [9, 11] и развитию эмбриотоксических эффектов [10, 12], включая нарушения в формировании жизненно важных органов [13].

Печень, являясь ключевым органом метаболической регуляции и детоксикации, играет центральную роль в поддержании гомеостаза организма, особенно в условиях воздействия потенциально токсичных веществ [6]. Однако морфофункциональные изменения в печени эмбрионов под воздействием НЧ TiO_2 остаются недостаточно изученными, что требует углубленного анализа для понимания возможных механизмов токсичности и рисков для развивающегося организма. **Цель** исследования: изучение морфометрической характеристики печени эмбрионов крыс на фоне воздействия НЧ TiO_2 в антенатальный период развития.

Методика

В эксперименте применяли нанодисперсный TiO_2 рутильной модификации со средним размером кристаллов от 30 до 50 нанометров. Дистиллированная вода служила условным растворителем. Для диспергирования порошка TiO_2 пробирки держали 3 мин в ультразвуковой ванне до образования однородной суспензии.

В исследовании использовались самки аутбредных белых крыс ($n=12$) Wistar весом 210–250 г, объектом исследования являлись их эмбрионы. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях. В доклинической практике эмбриотоксичность изучается на лабораторных животных в различные периоды гестации для оценки воздействия тестируемого вещества

на развитие плода [3, 13]. В связи с этим эмбрионы были извлечены на 15-й день беременности, соответствующий среднему этапу органогенеза, и на 20-й день беременности, характеризующийся функциональным созреванием печени. Такой подход позволяет выявить ранние и накопленные изменения, а также оценить степень структурных нарушений на фоне воздействия НЧ TiO_2 [3].

Опытной группе из 7 самок перорально вводили суспензию TiO_2 через зонд в дозировке 10 мг/кг в объеме 1 мл один раз в сутки: первая группа ($n=3$) – в течение 14 дней до зачатия и с 1-го по 15-й день гестации; вторая группа ($n=4$) – в течение 14 дней до зачатия и с 1-го по 20-й день гестации. Все процедуры проводились в соответствии с ГОСТ 32379-2013. Контрольной группе из 5 самок перорально с помощью зонда вводился физраствор (0,9% NaCl) весь период эксперимента. В контрольной группе также были сформированы две подгруппы: 2 самки выводились из эксперимента на 15-й день, 3 самки – на 20-й день.

Для определения эстральных циклов и установления начала беременности использовали метод вагинальных мазков [10]. Безболезненная эвтаназия проводилась с помощью внутрибрюшинного введения раствора хлоралгидрата в концентрации 400 мг/кг в 1 мл дистиллированной воды.

Экспериментальное животное фиксировали в препаровальном лотке, выполняли продольный разрез брюшной стенки, обеспечивая прямой доступ к брюшной полости. Извлекали репродуктивные органы, включая матку и её рога, затем разрезали рога матки для извлечения и подсчета эмбрионов [10]. Затем извлекали органокомплекс эмбриона, включая печень. Опытная группа включала 12 эмбрионов на 15-й день гестации и 16 эмбрионов на 20-й день, тогда как в контрольной группе было 8 и 11 эмбрионов в соответствующих сроках беременности.

Печень эмбрионов крыс фиксировали в забуференном 10% формалине по Лилли, обезживали в спиртах восходящей концентрации (70, 80, 96 и 100%) и заливали в парафин. Готовили серию фронтальных срезов толщиной 5 мкм на ротационном микротоме, гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Микроскопия осуществлялась с помощью светоптического микроскопа МИКМЕД-5 («ЛОМО», РФ), оснащенного цифровой камерой Levenhuk C310 NG (Levenhuk, США), в программе Tour View версии 3.7. Подсчет клеток производили в 10 полях зрения на увеличении $\times 100$ в программе QuPath 0.5.1. Использовались критерии Манна–Уитни для сравнения отдельных сроков наблюдения и исследуемых групп. Полученные в ходе исследования данные анализировались с помощью программы «STATISTICA» версии 13.5. Для срав-

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.70-78

нения исследуемых групп на разных сроках наблюдения использовался непараметрический критерий Манна–Уитни с расчётом коэффициента U.

Результаты

Печень эмбрионов крыс контрольной группы на 15-й день гестации характеризуется активным развитием паренхимы, о чём свидетельствует высокий процент двуядерных гепатоцитов. На 20-й день паренхима завершает своё формирование, число гепатоцитов увеличивается на 26%, а процент двуядерных клеток снижается до 17% ($p < 0,05$) (рис. 1).

Воздействие НЧ TiO_2 привело к значительному снижению числа гепатоцитов, более низкому соотношению одноядерных и двуядерных клеток, а также изменению их размеров в печени опытной группы. В дополнение к этому отмечено увеличение числа макрофагов, что может свидетельствовать об активации иммунного ответа и усилении макрофагальной инфильтрации.

Полученные данные свидетельствуют о выраженном эффекте НЧ TiO_2 на формирование паренхимы печени эмбрионов. Гепатоциты, являясь активными метаболитическими клетками, проявляют высокую чувствительность к повреждающим воздействиям, что приводит к их разру-

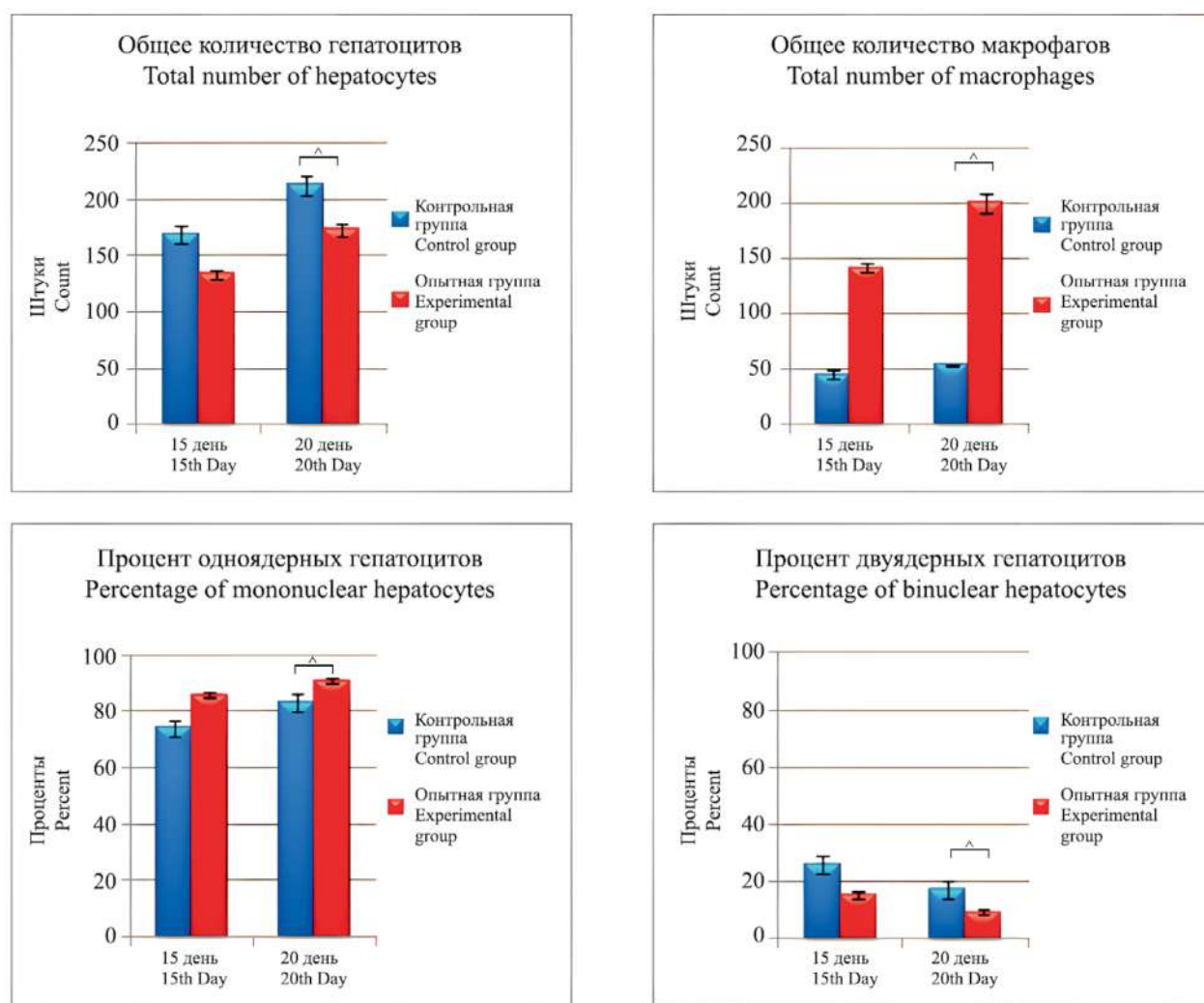


Рис. 1. Количественные показатели гепатоцитов и макрофагов на 100 000 μm^2 : по оси абсцисс указан срок наблюдений, по оси ординат – единицы измерения, ^ – статистически значимые различия ($p < 0,05$) при сравнении опытной и контрольной группы.

Fig. 1. Quantitative indicators of hepatocytes and macrophages per 100,000 μm^2 : the abscissa axis represents the observation time, while the ordinate axis represents the units of measurement; ^ – statistically significant differences ($p < 0,05$) when comparing the control and experimental groups.

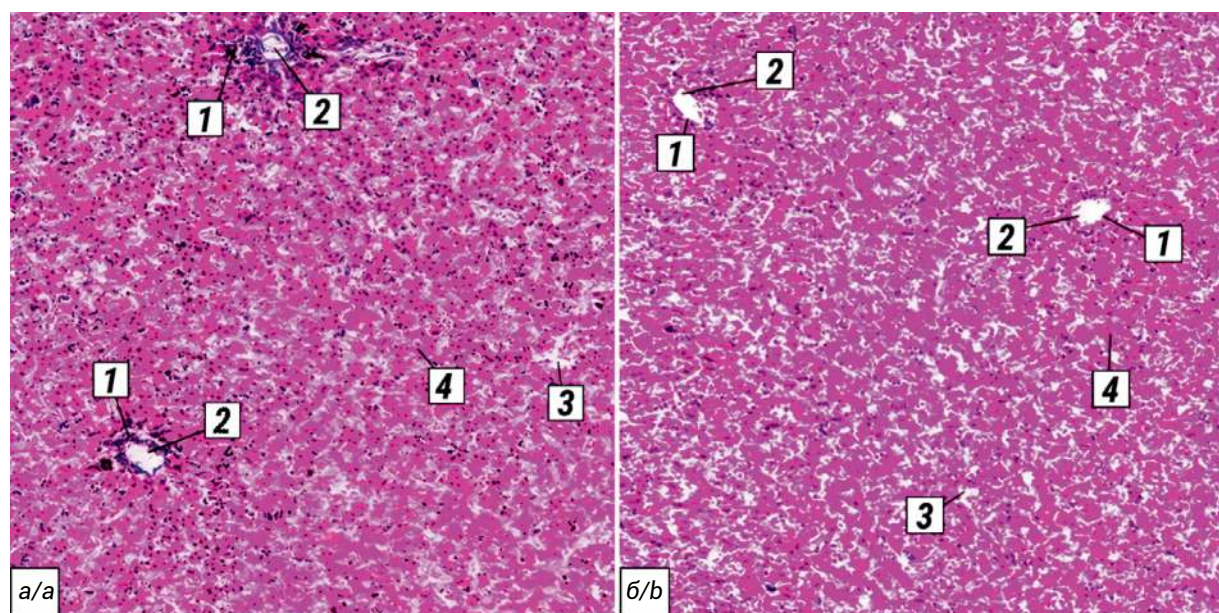


Рис. 2. Ткань печени эмбриона крысы опытной группы (а/а) и контрольной группы (б/б) на 20-й день эмбриогенеза: 1 – скопление макрофагов, 2 – крупный кровеносный сосуд, 3 – синусоидный капилляр, 4 – гепатоцит. Ув. 100, окраска гематоксилином и эозином

Fig. 2. Liver tissue of rat embryos from the experimental group (a/a) and control group (b/b) on the 20th day of embryogenesis: 1 – accumulation of macrophages, 2 – large blood vessel, 3 – sinusoidal capillary, 4 – hepatocyte. Magnification 100, stained with hematoxylin and eosin.

шению [1, 11]. Это отражается на количественных показателях: численность гепатоцитов на 20-й день гестации в опытной группе была значимо ниже на 18% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

НЧ TiO_2 также провоцируют ответную иммунную реакцию. В печени эмбрионов крыс, находившихся под воздействием НЧ, выявлялось резкое увеличение количества макрофагов: на 15-й день на 312%, на 20-й день – 372% ($p < 0,05$) (рис. 1).

Концентрация звёздчатых макрофагов (клеток Купфера) значительно преобладает возле крупных сосудов в перисинусоидальном пространстве, это особенно выражено у опытной группы (рис. 2, а/а).

В гистологических препаратах печени опытной группы преимущественно преобладают крупные клетки (рис. 3, а/а). Локальные участки с разрушающимися гепатоцитами характеризуются наличием пикнотичных ядер и фрагментов цитоплазмы, которые являются типичными морфологическими изменениями при апоптозе [6, 7].

Данные, представленные в таблице, свидетельствуют о нарушениях в развитии печени: площадь и периметр гепатоцитов опытной группы на 20-й день меньше контрольных значений на 20% ($p < 0,05$). Периметр и диаметр ядер оказались меньше контроля, что отражается на ядерно-цитоплазматическом отношении. Площадь и периметр макрофагов на 20-й день в опытной группе ста-

тистически значимо выше, чем в контрольной группе, на 31% и 20% соответственно ($p < 0,05$).

Ростро-каудальные и весовые показатели эмбрионов в контрольной и опытной группе демонстрируют незначительное воздействие НЧ TiO_2 только после второй недели развития (рис. 4).

К концу третьей недели эмбриогенеза наблюдается значимое увеличение веса и длины эмбрионов в опытной группе. На 15-й день статистически значимых различий не обнаружено, на 20-й день вес и длина эмбрионов опытной группы превысили контрольные значения на 5,3% и 7,9% соответственно ($p < 0,05$).

Обсуждение

В норме печень эмбрионов характеризуется активным формированием паренхимы, что сопровождается пролиферацией гепатоцитов и развитием сосудистого компонента. У контрольной группы эмбрионов развитие печени проходит без нарушений. На 15-й день беременности у опытной группы эмбрионов статистически значимых различий от контроля в количественных и морфометрических показателях не зафиксировано.

Однако под воздействием НЧ TiO_2 в поздние сроки гестации наблюдаются значительные структурные и количественные изменения в клеточном составе и архитектонике печени эмбрионов опытной группы.

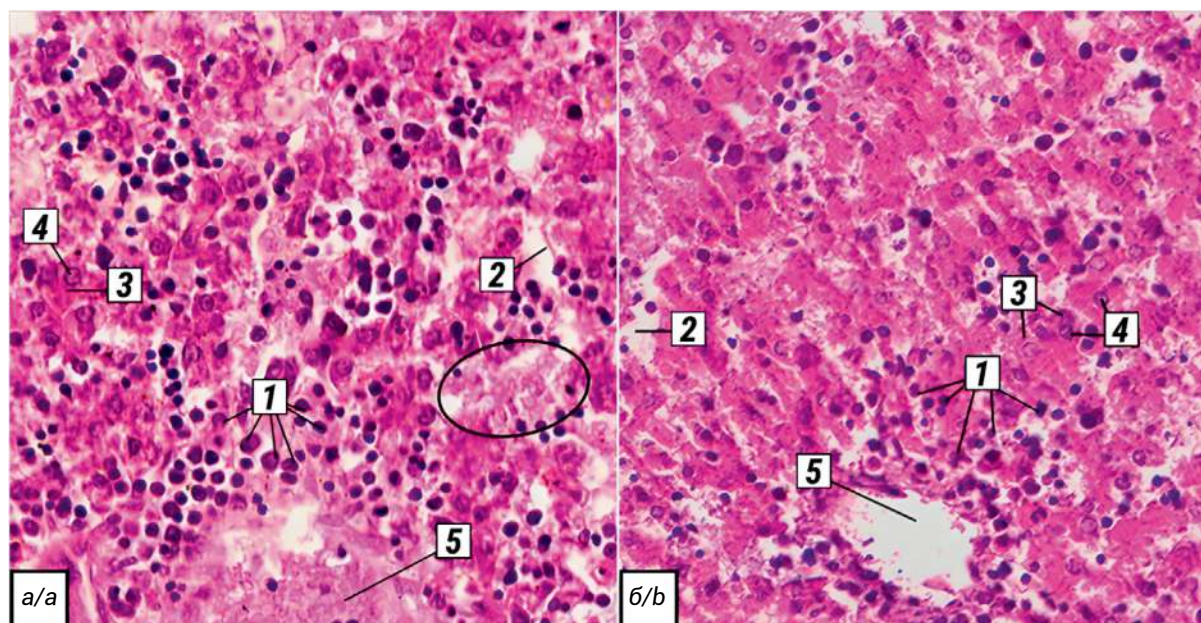


Рис. 3. Ткань печени эмбриона крысы опытной группы (а/а) и контрольной группы (б/б) на 15-й день эмбриогенеза, эллипсом отмечены участки разрушающихся гепатоцитов: 1 – макрофаги, 2 – синусоидный капилляр, 3 – гепатоцит, 4 – ядро гепатоцита, 5 – центральная вена. Ув. 400, окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 3. Liver tissue of rat embryos from the experimental group (a/a) and control group (b/b) on the 15th day of embryogenesis, with ellipses marking areas of degenerating hepatocytes: 1 – macrophages, 2 – sinusoidal capillary, 3 – hepatocyte, 4 – hepatocyte nucleus, 5 – central vein. Magnification 400, stained with hematoxylin and eosin.

Морфометрические показатели гепатоцитов и макрофагов

Morphometric indicators of hepatocytes and macrophages

Группа Group	Контрольная группа Control group		Опытная группа Experimental group	
	15 день 15 th Day	20 день 20 th Day	15 день 15 th Day	20 день 20 th Day
Площадь гепатоцитов, мкм ² Area of hepatocytes, μm^2	126,28±1,61	144,63±1,97	93,22±1,30	116,28±1,51 ^
Периметр гепатоцитов, мкм Perimeter of hepatocytes, μm	38,41±1,73	43,87±0,49	33,66±0,92	35,03±0,17 ^
Площадь ядер гепатоцитов, мкм ² Area of hepatocyte nuclei, μm^2	25,12±0,36	27,22±0,10	24,61±0,22	28,44±0,39 ^
Периметр ядра, мкм Perimeter of nucleus, μm	17,81±1,11	18,52±0,19	17,71±0,12	19,39±0,20 ^
Диаметр ядра, мкм Diameter of nucleus, μm	5,39±0,18	5,50±0,17	5,82±0,14	6,03±0,10
Ядерно-цитоплазматическое отношение Nuclear-cytoplasmic ratio	0,20±0,00	0,19±0,01	0,26±0,01	0,24±0,01 ^
Площадь макрофагов, мкм ² Area of macrophages, μm^2	9,95±0,21	11,11±0,09	11,06±0,09	14,66±0,42 ^
Периметр макрофагов, мкм Perimeter of macrophages, μm	10,56±0,35	11,53±0,11	11,81±0,14	13,86±0,24 ^

Примечание. ^ – статистически значимые различия ($p<0,05$) при сравнении контрольной и опытной группы на 20-й день.

Note. ^ – statistically significant differences ($p<0,05$) when comparing the control and experimental groups on the 20th day.

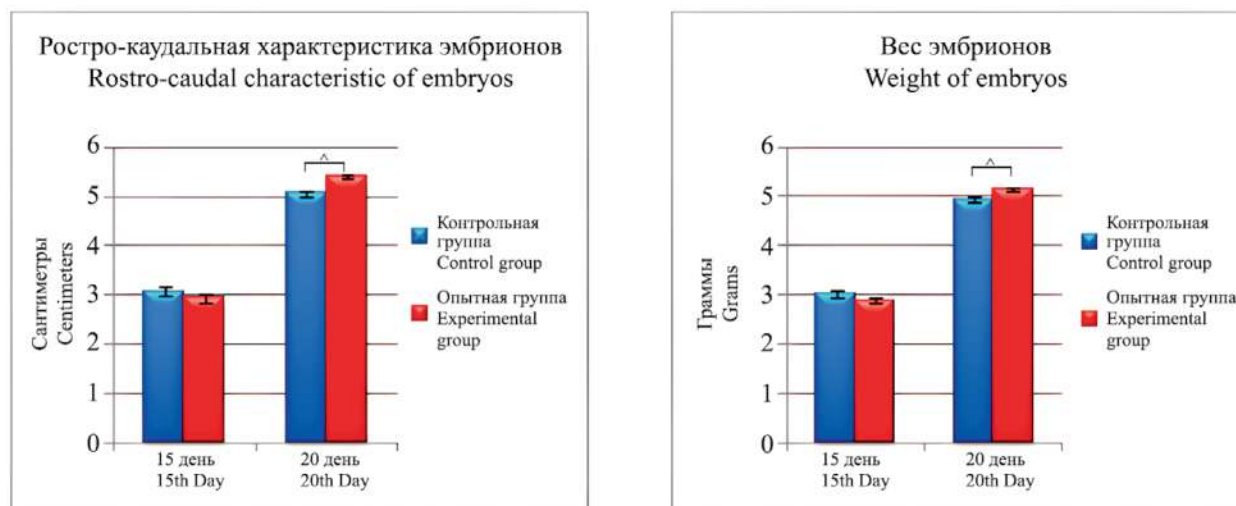


Рис. 4. Ростро-каудальная и весовая характеристика эмбрионов: по оси абсцисс указан срок наблюдений, по оси ординат – единицы измерения, ^ – статистически значимые различия ($p < 0,05$) при сравнении опытной и контрольной группы.

Fig. 4. Rostro-caudal and weight characteristics of embryos: the abscissa axis represents the observation time, while the ordinate axis represents the units of measurement, ^ – statistically significant differences ($p < 0,05$) when comparing the control and experimental groups.

Воздействие НЧ TiO_2 привело к статистически значимому снижению общего количества гепатоцитов и нарушению соотношения одноядерных и двуядерных клеток. Снижение числа двуядерных гепатоцитов, являющихся признаком активной пролиферации и процессов регенерации, указывает на угнетение метаболической активности и задержку процессов клеточной дифференцировки [14]. Кроме того, уменьшение размеров гепатоцитов, выявленное в эксперименте, и немногочисленные локальные участки с разрушенными клетками являются признаком начинающейся дистрофии клеток. Хотя в нашем исследовании маркеры окислительного стресса не оценивались, роль свободных радикалов в механизме токсичности НЧ TiO_2 весьма вероятна [4, 7]. Ранее было показано, что НЧ индуцируют образование активных форм кислорода, вызывая дисфункцию митохондрий, что ведёт к угнетению АТФ-зависимых процессов и клеточной гибели путём апоптоза [6, 11, 15].

Установленное увеличение числа макрофагов указывает на активацию локального иммунного ответа. Клетки Купфера, являющиеся резидентными макрофагами печени, играют центральную роль в фагоцитарной активности и запуске воспалительных реакций [11, 12]. Их увеличение, вероятно, связано с ответом на повреждение гепатоцитов и накопление НЧ в ткани печени [6, 7]. Это соответствует результатам других исследований, в которых НЧ TiO_2 вызвали активацию макрофагального звена иммунной системы и воспалительный ответ [9, 11, 15]. Однако для более точной оценки требуется проведение иммуно-

гистохимического анализа с использованием специфичных маркеров макрофагов.

Гепатотоксичность НЧ иных металлов проявляется схожим образом, однако характер изменений и их выраженность различается от конкретного вида токсиканта. НЧ оксида цинка, накапливаясь в тканях, способны нарушать метаболизм гепатоцитов и индуцировать окислительный стресс, воздействуя на антиоксидантные механизмы клеток [16]. НЧ серебра вызывают серьёзные повреждения ткани печени, включая дегенерацию и некроз гепатоцитов, вакуолизацию клеток [17, 18]. Введение НЧ оксида железа в клинической дозе не вызывает значительной гепатотоксичности у здоровых мышей [19], но усугубляет накопление липидов и воспаление при стеатозе [20]. Воздействие тяжёлых металлов, таких как кадмий и свинец, в т.ч. их НЧ, характеризуется индукцией окислительного стресса [21, 22], дегенерацией паренхимы [23], развитием фиброза и цирроза печени, а также усилением воспаления, способствующего инфильтрации макрофагов [24].

Ростро-каудальные показатели и вес эмбрионов свидетельствуют о том, что воздействие НЧ TiO_2 на сам плод незначителен, либо отсутствует. До начала третьей недели гестации воздействие исследуемого вещества не отражается на весе и размере плодов, что подтверждает результаты ранних исследований [9]. Однако незначительное увеличение веса и размера эмбрионов опытной группы на 20-й день не соответствует данным других работ [25], и мы не можем подтвердить влияние НЧ TiO_2 на размер и вес плодов.

Заключение

Несмотря на то, что воздействие НЧ TiO_2 обычно считается относительно безопасным, полученные в данном исследовании данные требуют осторожности в оценке потенциальных рисков его применения. Особенно важно уделить внимание возможному негативному воздействию этих частиц на беременных женщин и развивающийся плод, которые могут быть особенно восприимчивы к токсическому эффекту ксенобиотиков.

На основе полученных результатов мы можем сказать, что изменения, обусловленные токсическим воздействием НЧ TiO_2 , начинают проявляться на поздних стадиях эмбриогенеза. На 15-й день гестации статистически значимых различий в количественных, морфометрических, rostro-каудальных и весовых показателях не обнаружено. Достоверное снижение общего числа гепатоцитов, изменения их морфометрических характеристик, соотношение одноядерных и двоядерных клеток на 20-й день указывают на нарушения в развитии паренхимы и нормальных процессов клеточной дифференцировки, что может свидетельствовать о токсическом воздействии НЧ TiO_2 на развивающуюся печень.

Значительное увеличение числа макрофагов является признаком макрофагальной инфильтрации. Это может быть связано с локальным иммунным ответом ввиду повреждения гепатоцитов и накопления НЧ TiO_2 в тканях печени. Однако для более точной оценки механизма воспаления требуется проведение дополнительных иммуногистохимических исследований.

Литература

(п.п. 1; 3; 4; 6–8; 11; 12; 15–24 см. References)

- Гусев А.И. *Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии*. М.: ФИЗМАЛИТ; 2005.
- Полонский В.И., Асанова А.А. Оценка воздействия наночастиц диоксида титана на живые организмы. *Теоретические проблемы экологии*. 2018; 3: 5–11. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2018-3-005-011>
- Аляхнович Н.С., Новиков Д.К. Распространённость, применение и патологические эффекты диоксида титана. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2016; 15(2): 7–16. <https://doi.org/10.14427/jipai.2016.1.37>
- Шарафутдинова Л.А., Хисматуллина З.Р., Даминов М.Р., Валиуллин В.В. Исследование эмбриотоксического действия наночастиц диоксида титана на крыс. *Морфологические ведомости*. 2017; 25(3): 37–42. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).03.37-42](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).03.37-42)
- Попп Е.А., Дубинина Н.Н., Саматова И.М. Структурно-функциональная характеристика печени матери и плодов в условиях эндотоксикоза и энтеропротекции. *Медицина и образование в Сибири*. 2014; 2: 60
- Зайко О.А., Зендер М.М., Ефимова М.А., Нуралиева Д.А., Полосин Н.А. Наличие двоядерных гепатоцитов в печени человека как актуальный диагностический признак. *Анатомия в XXI веке – традиция и современность*. 2024: 84–6.
- Шейда Е.В., Русакова Е.А., Сипайлова О.Ю., Сизова Е.А. Влияние ультрадисперсных частиц Ti и TiO_2 на физиологический статус и состояние центральной нервной системы животных. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2018; 4(72): 232–5.
- Racovita A.D. Titanium dioxide: structure, impact, and toxicity. *Environmental Research and Public Health*. 2022; 6(19): 5681. <https://doi.org/10.3390/ijerph19095681>
- Gusev A.I. *Nanomaterials, nanostructures, nanotechnology. [Nanomaterialy, nanostruktury, nanotekhnologii]*. Moscow; FIZMALIT; 2005. (in Russian)
- Teng C., Jiang C., Gao S., Liu X., Zhai S. Fetotoxicity of nanoparticles: causes and mechanisms. *Nanomaterials*. 2021; 11(3): 791. <https://doi.org/10.3390/nano11030791>
- Rollerova E., Tulinska J., Liskova A., Kuricova M., Kovriznykh J., Mlynarcikova A., et al. Titanium dioxide nanoparticles: some aspects of toxicity/focus on the development. *Endocrine regulations*. 2015; 49(2): 97–112. https://doi.org/10.4149/endo_2015_02_97
- Polonsky V.I., Asanova A.A. Assessment of the impact of titanium dioxide nanoparticles on living organisms. *Teoreticheskie Problemy Ekologii*. 2018; 3: 5–11. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2018-3-005-011> (in Russian)
- Khan J., Kim N.D., Bromhead C., Truman P., Kruger M.C., Mallard B.L. Hepatotoxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Journal of applied toxicology*. 2024; 45(1): 23–46. <https://doi.org/10.1002/jat.4626>
- Duan Y., Yang Y., Zhang Z., Xing Y., Li H. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles on the histology, liver physiological and metabolism, and intestinal microbiota of grouper. *Marine pollution bulletin*. 2023; 187: 114600. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114600>
- Weir A., Westerhoff P., Fabricius L., Hristovsk K., von Goetz N. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environmental science & technology*. 2012; 46(4): 2242–50. <https://doi.org/10.1021/es204168d>
- Alyakhnovich N.S., Novikov D.K. Prevalence, application, and pathological effects of titanium dioxide. *Vestnik Vitebskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta*. 2016; 15(2): 7–16. <https://doi.org/10.14427/jipai.2016.1.37> (in Russian)
- Sharafutdinova L.A., Khismatulina Z.R., Damirov M.R., Valiullin V.V. Study of the embryotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles on rats. *Morfologicheskie Vedomosti*. 2017; 25(3): 37–42. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).03.37-42](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).03.37-42) (in Russian)
- Martins A.D.C., Azevedo L.F., de Souza Rocha C.C., Carneiro M.F.H., Venancio V.P., de Almeida M.R., et al. Evaluation of distribution, redox parameters, and genotoxicity in Wistar rats co-exposed to silver and titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2017; 80(19–21): 1156–65. <https://doi.org/10.1080/15287394.2017.1357376>
- Ahmad M., Khan M.K.A., Shahzad K., Ahmad N., Parveen M., Khan M.S. Teratological effects of titanium dioxide nanoparticles in mice embryo. *Environmental science and pollution research international*. 2022; 29(27): 40724–33. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18237-0>
- Popp E.A., Dubinina N.N., Samatova I.M. Structural-functional characteristics of the liver of mothers and offspring under conditions of endotoxikosis and enteroprotection. *Meditsina i obrazovanie v Sibiri*. 2014; 2: 60. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.70-78

14. Zaiko O.A., Zender M.M., Efimova M.A., Nuralieva D.A., Polosin N.A. The presence of binucleated hepatocytes in the human liver as a relevant diagnostic feature. *Anatomiya v XXI veke – traditsiya i sovremennost'*. 2024; 84–6. (in Russian)
15. Dugershaw B.B., Aengenheister L., Hansen S.S.K., Hougaard K.S., Buerki-Thurnherr T. Recent insights on indirect mechanisms in developmental toxicity of nanomaterials. *Particle and fibre toxicology*. 2020; 17: 31. <https://doi.org/10.1186/s12989-020-00359-x>
16. Guo Z., Luo Y., Zhang P., Chetwynd A.J., Xie H.Q., Monikh F.A., et al. Deciphering the particle specific effects on metabolism in rat liver and plasma from ZnO nanoparticles versus ionic Zn exposure. *Environment international*. 2020; 136: 105437. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105437>
17. Zhang J., Liu S., Han J., Wang Z., Zhang S. On the developmental toxicity of silver nanoparticles. *Materials & Design*. 2021; 203(7117): 109611. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.109611>
18. More S.B., Mohan M., Kulkarni P., Ahire K.C. Lycopene attenuates silver nanoparticle-induced liver injury in albino mice. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2023; 37(12): e23500 <https://doi.org/10.1002/jbt.23500>
19. Hannon G., Bogdanska A., Keogh A., Finn S.P., Gobbo O.L., Prina-Mello A. Biodistribution and histological analysis of iron oxide-dextran nanoparticles in wistar rats. *Nanotoxicology*. 2023; 17(8–9): 562–80. <https://doi.org/10.1080/17435390.2023.2276413>
20. Zhu M., Chen H., Zhou S., Zheng L., Li X., Chu R., et al. Iron oxide nanoparticles aggravate hepatic steatosis and liver injury in nonalcoholic fatty liver disease through BMP-SMAD-mediated hepatic iron overload. *Nanotoxicology*. 2021; 15(6): 1–18. <https://doi.org/10.1080/17435390.2021.1919329>
21. Hirao-Suzuki M., Takeda S., Sakai G., Waalkes M.P., Sugihara N., Takiguchi M. Cadmium-stimulated invasion of rat liver cells during malignant transformation: Evidence of the involvement of oxidative stress/TET1-sensitive machinery. *Toxicology*. 2021; 447: 152631 <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152631>
22. Jomova K., Alomar S.Y., Nepovimova E., Kuca K., Valko M. Heavy metals: toxicity and human health effects. *Archives of toxicology*. 2025; 99(1): 153–209. <https://doi.org/10.1007/s00204-024-03903-2>
23. Rana K., Verma Y., Rana S.V.S. Possible mechanisms of liver injury induced by cadmium sulfide nanoparticles in rat. *Biological trace element research*. 2021; 199(1): 216–26. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02128-5>
24. Xu. Y., Mu W., Li J., Ba Q., Wang H. Chronic cadmium exposure at environmental-relevant level accelerates the development of hepatotoxicity to hepatocarcinogenesis. *The Science of the total environment*. 2021; 783: 146958 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146958>
25. Sheida E.V., Rusakova E.A., Sipailova O.Yu., Sizova E.A. Effect of ultradisperse Ti and TiO2 particles on physiological status and central nervous system of animals. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2018; 4(72): 232–5. (in Russian)

Сведения об авторах:

Хакимов Альберт Рузиевич, мл. науч. сотр., лаб. нейрофизиологии зрения ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»,
e-mail: shershakov2015a@mail.ru;

Фёдорова Альбина Мубараквна, канд. биол. наук, доцент каф. биологии и экологии «Института природы и человека» Уфимского университета науки и технологий;

Лебедева Анна Ивановна, доктор биол. наук, ст. науч. сотр., и.о. зав. научно-исследовательского отдела морфологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии».