

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

УДК [615.9:616.15:546.723-31-022.532]:57.084

<https://doi.org/10.33573/ujoh2021.04.215>

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕМАТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ МІКРО-І НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ ЗАЛІЗА Fe_2O_3 ЗА УМОВИ ОДНОРАЗОВОГО ТА ТРИВАЛОГО НАДХОДЖЕННЯ В ОРГАНІЗМ ШУРІВ

Трахтенберг І. М., Дмитруха Н. М., Лагутіна О. С., Короленко Т. К.,
Легкоступ Л. А., Герасімова О. В.

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

Вступ. Наночастинки оксиду заліза Fe_2O_3 (НЧ Fe_2O_3) завдяки особливим магнітним властивостям використовуються в промисловості як каталізатори, а також у медицині для лікування та діагностики онкологічних захворювань. З огляду на малі розміри НЧ та їхню підвищену біологічну активність, акумуляцію у внутрішніх органах і повільну елімінацію дослідження їхнього впливу на організм є важливою медико-біологічною проблемою.

Мета дослідження – вивчення впливу оксиду заліза Fe_2O_3 з мікро- і наночастинками на склад і коагулометричні показники периферичної крові за умови моделювання гострої та субхронічної інтоксикацій у шурів.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження були колоїдні розчини Fe_2O_3 з частинками 19 нм і 400 нм; шури самці лінії Вістар ($n = 30$), які були розподілені на 3 групи ($n = 10$). 1-й дослідній групі шурів вводили розчин НЧ Fe_2O_3 19 нм; 2-й групі – розчин Fe_2O_3 з частинками 400 нм; контрольній групі тварин вводили 0,9 % фізіологічний розчин. Визначення складу периферичної крові виконано за допомогою гематологічного аналізатора Elite 3 (Чехія), показників коагулограми на приладі Humaclot Junior (Німеччина). Дослідження виконано після одноразового інтратрахеального і 30-разового внутрішньоочеревинного введення розчинів Fe_2O_3 .

Результати. Встановлено, що одноразове інтратрахеальне введення колоїдних розчинів Fe_2O_3 викликало зміни гематологічних показників (зниження рівня гемоглобіну, зменшення кількості еритроцитів і тромбоцитів, гематокриту, кількості лейкоцитів, збільшення моноцитів), що свідчать про порушення процесів гемопоєзу та синтезу гемоглобіну. Тривала інтоксикація дрібнодисперсними частинками Fe_2O_3 призводила до суттєвого зниження загальної кількості еритроцитів і лейкоцитів, що разом з порушенням процесу синтезу гемоглобіну може призвести до розвитку анемії. Як гостра, так і субхронічна інтоксикація Fe_2O_3 спричиняли зміни показників, що характеризують стан клітин тромбоцитарного ряду та коагулограми, які свідчать про серйозні порушення в системі згортання крові та про високий ризик утворення тромбів внаслідок зменшення в'язкості крові.

Висновки. Гостра інтоксикація Fe_2O_3 викликала пригнічення еритропоєзу, процесу синтезу гемоглобіну, підвищення згортання крові. Тривале надходження розчинів Fe_2O_3 в організм шурів характеризувалось більш виразним впливом на всі досліджувані показники крові, що вказує на розвиток анемії, стимуляцію клітин макрофагально-моноцитарного ряду та підвищений ризик тромбоутворення. Отримані дані свідчать про наявність відмінностей у здатності мікро- та наночастинок Fe_2O_3 впливати на склад периферичної крові, процес синтезу гемоглобіну та показники системи згортання крові.

Ключові слова: оксид заліза, мікро- і наночастинки, периферична кров, гематотоксичність

Вступ

Серед штучно синтезованих наночастинок (НЧ) оксидів металів найпоширенішими сьогодні є НЧ оксидів заліза Fe_2O_3 і Fe_3O_4 , які використовуються в промисловості як каталізатори, а також у медицині для лікування та діагностики онкологічних захворювань. З огляду на особливі властивості НЧ оксиду заліза, зокрема, підвищену біологічну активність, акумуляцію у внутрішніх органах і повільну

елімінацію, дослідження їхнього впливу на стан внутрішніх органів і систем організму є важливою медико-біологічною проблемою [1–3].

За даними літератури [4–6] токсичний ефект НЧ оксидів заліза залежить як від їхніх розмірів та концентрації, так і від того, яким шляхом дані частинки потрапляють до організму. Досліджено, що завдяки малому розміру НЧ оксидів заліза можуть проникати крізь мембрани клітин, долати біологічні

бар'єри, ініціювати утворення реактивних сполук кисню (оксидативний стрес) та запалення, пошкоджувати органели та ДНК, призводити до апоптозу та некрозу клітин і тканин. Такі властивості магнітних НЧ оксидів заліза не тільки згубно впливають на пухлинні клітини, але й можуть завдавати ушкодження клітинам нормальних тканин та органів [7].

Однією з чутливих до дії потенційно небезпечних хімічних факторів, зокрема, сполук важких металів, є система крові, оскільки при надходженні в організм вони взаємодіють з клітинними та гуморальними компонентами крові. Отже, дослідження клітинного складу крові, а також компонентів системи регуляції агрегатного стану крові, які забезпечують неспецифічну резистентність, гемостаз і підтримують рідкий стан крові в судинах за дії НЧ оксиду заліза є вельми показовим та інформативним [8, 9].

Досліджено, що інгаляційне надходження НЧ оксиду заліза розмірами 22 і 280 нм в організм щурів у дозах 0,8 і 20,0 мг/кг викликало індукцію активних форм кисню в клітинах, гіперплазію та фіброз тканини легенів, а також порушення системи згортання крові [5, 6].

Виконані дослідження з оцінки впливу феромагнітної рідини на судинну систему та систему згортання крові з використанням фантом-систем для внутрішньовенного введення препаратів показали, що з просвіту судин магнетит крізь пори в судинній стінці проникає в міжклітинний простір, потім крізь клітинну мембрану всередину клітини, де деякий час локалізується на клітинних органелах. При дослідженні системи гемостазу з визначенням коагулограми встановлено, що внутрішньовенне введення магнетиту в дозі 80 мг/кг ваги викликає зміщення системи згортання в бік гіперкоагуляції. У дозі 125 мг/кг відбувається «зрив» системи гемостазу й розвиток синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання [10].

Мета дослідження — вивчення впливу колоїдних розчинів оксиду заліза Fe_2O_3 з мікро- і наночастинками на склад та коагулометричні показники периферичної крові щурів за умови моделювання гострої та субхронічної інтоксикації.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були колоїдні розчини оксиду заліза Fe_2O_3 з середнім розміром частинок — 19 нм і 400 нм. Розмір частинок у розчинах Fe_2O_3

визначали за допомогою лазерного аналізатора частинок Zetasizer NanoZS (Німеччина).

Експеримент виконано на статевозрілих білих щурах самцях лінії Вістар з початковою масою 260–280 г, які перебували в стаціонарних умовах віварію на стандартному харчовому та водному режимах. Щури були розподілені на дві серії — у кожній по 2 дослідні та 1 контрольна групи ($n = 10$). 1-й дослідній групі щурів вводили розчин НЧ Fe_2O_3 19 нм; 2-й групі — розчин Fe_2O_3 з частинками 400 нм; контрольній групі вводили 0,9 % фізіологічний розчин.

При моделюванні гострої інтоксикації (І серія) колоїдні розчини Fe_2O_3 вводили щурам інтратрахеально однократно в дозі 10 мг (за залізом) на 1 кг маси тіла. Дослідження виконували на 21 добу після введення. У II серії при моделюванні субхронічної інтоксикації колоїдні розчини вводили 5 разів на тиждень у дозі 1,12 мг (за залізом) на 1 кг маси тіла щура, усього 30 введення. Кров у контрольних і дослідних тварин забирали після декапітації під теопенталовим наркозом. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до положень «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1985 р.), і були схвалені Комітетом з біоетики НАН України [11].

Для визначення впливу НЧ оксиду заліза на периферичну кров виконано гематологічні дослідження за допомогою автоматичного аналізатора Elite 3 (Чехія), вміст цинкпротопорфірину (ЦПП) в крові вимірювали за допомогою гемофлюориметра 206Д (США) згідно з інструкцією до приладу. Визначення параметрів згортання крові (протромбіновий час та протромбіновий індекс (ПТІ), активований частковий тромбіновий час (АЧТЧ), вміст фібриногену в плазмі) виконано за допомогою коагулометра Humaclot Junior (Німеччина) з використанням стандартних наборів реактивів. Перед проведенням аналізу з дослідної крові (з антикоагулянтом цитратом натрію 3,2 % у співвідношенні 9:1) виділяли плазму шляхом центрифугування 10 хв при 3000 g.

Статистичний аналіз отриманих даних виконано з використанням програми Microsoft Excel 2010, де розраховували середнє арифметичне, середнє відхилення, похибку середнього арифметичного. Відмінність показників реєстрували з урахуванням t -критерію Стьюдента та U -критерію Манна-Уїтні [12].

Результати дослідження та їх обговорення

За даними літератури [13] основними механізмами гематотоксичної дії важких металів є порушення еритропоезу, пригнічення процесу синтезу гему й глобіну (особливо α -ланцюга), мембрано- та цитотоксична дія, що призводить до зниження тривалості життя клітин крові та їхніх морфофункціональних змін.

Після інтратрахеального введення щурам колоїдних розчинів оксиду заліза обох розмірів спостерігалось зниження концентрації гемоглобіну та підвищення вмісту ЦПП, що вказує на порушення процесу синтезу гему внаслідок блокування ферохелатази та включення до складу гему цинку замість заліза. У клітинному складі периферичної крові було визначено незначне зниження кількості еритроцитів після введення Fe_2O_3 400 нм (на 9,0 %) та тенденцію до зниження кількості лейкоцитів (на 20,0 %) за впливу НЧ Fe_2O_3 19 нм ($p < 0,1$ відносно контролю). В обох дослідних групах щурів спостерігалось збільшенням відсотка моноцитів порівняно з показниками контрольної групи (табл. 1). Отже, отримані результати можуть вказувати на незначне порушення еритропоезу та активацію клітин макрофагально-моноцитарного ряду.

Як відомо, провідна роль у підтримці нормально-го функціонування ендотеліальних клітин, здійсненні первинного гомеостазу належить тромбоцитам. Виражена активація тромбоцитів є найважливішим пусковим механізмом тромбоутворення [14].

У наших дослідженнях встановлено, що інтратрахеальне введення щурам колоїдних розчинів оксиду заліза обох розмірів викликало незначне підвищення кількості тромбоцитів (на 12,6 % і 7,0 % відповідно, $p < 0,1$) та достовірне збільшення тромбокрит (на 84,6 % і 61,5 %) і фракції великих тромбоцитів (на 55,9 % і 47,0 % відповідно, $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою) (табл. 1). Оскільки тромбокрит характеризує відсоток тромбоцитарної маси в обсязі крові й використовується для оцінки ризику виникнення кровотечі або тромбозів, встановлені підвищені значення тромбокрит у дослідних щурів за введення НЧ Fe_2O_3 можуть розглядатись як ознака розвитку тромбозу судин.

Окрім тромбоцитів у процесі утворення фібринового згустку в каскаді біохімічних реакцій беруть участь фактори згортання плазми крові.

Результати дослідження показали, що після одноразового інтратрахеального введення піддослідним щурам колоїдних розчинів Fe_2O_3 19 нм і 400 нм були встановлені зміни показників коагулограми порівняно з контрольною групою. Як у 1-й,

Таблиця 1

Показники периферичної крові щурів після одноразового інтратрахеального введення колоїдних розчинів Fe_2O_3 з частинками 19 нм і 400 нм, ($M \pm m$, $n = 10$)

Показник	Група тварин		
	контрольна	Fe_2O_3 19 нм	Fe_2O_3 400 нм
Цинкпротопорфірин, мМ/М гему	70,75 $\pm$ 4,38	135,63 $\pm$ 2,58*	70,75 $\pm$ 4,38
Гемоглобін, г/л	176,67 $\pm$ 2,57	162,50 $\pm$ 3,86	160,88 $\pm$ 3,64*
Еритроцити, 10^9 /мл	9,86 $\pm$ 0,16	9,92 $\pm$ 0,81	9,070 $\pm$ 0,023 [#]
Гематокрит, %	47,59 $\pm$ 0,75	48,80 $\pm$ 1,57	47,59 $\pm$ 0,75
Лейкоцити, 10^6 /мл	16,72 $\pm$ 0,77	13,36 $\pm$ 1,08 [#]	13,83 $\pm$ 2,03
Лімфоцити, %	40,38 $\pm$ 2,15	44,11 $\pm$ 3,26	37,69 $\pm$ 4,02
Моноцити, %	10,26 $\pm$ 0,62	14,03 $\pm$ 1,0 [#]	17,50 $\pm$ 4,58*
Нейтрофіли с/я, %	48,67 $\pm$ 3,22	48,51 $\pm$ 6,80	47,28 $\pm$ 4,20
Нейтрофіли п/я, %	2,70 $\pm$ 0,31	2,52 $\pm$ 0,41	2,33 $\pm$ 0,42
Еозенофіли, %	2,29 $\pm$ 0,31	1,52 $\pm$ 0,41*	2,0 $\pm$ 0,68
Тромбоцити, 10^6 /мл	379,67 $\pm$ 25,70	427,50 $\pm$ 91,56 [#]	407,52 $\pm$ 47,04 [#]
Тромбокрит, %	0,13 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,04*	0,21 $\pm$ 0,02*
Фракція великих тромбоцитів, %	41,83 $\pm$ 5,14	65,23 $\pm$ 8,58*	61,50 $\pm$ 8,65*

Примітка. Тут і в табл. 3: *позначена достовірна відмінність ($p < 0,05$) показників у дослідних групах порівняно з такими в контрольній групі тварин; [#]позначена тенденція до змін ($p < 0,1$).

так і в 2-й дослідних групах визначено достовірне підвищення рівня фібриногену (у 2,7 і 2,7 разу відповідно). У групі тварин, яким вводили Fe_2O_3 400 нм було встановлено збільшення ПТІ (23,6 %) та не значне зниження АЧТЧ (на 11,0 %) (табл. 2).

Як відомо, фібриноген — це фактор згортання крові I, що виробляється в печінці. Завдяки дії активних ферментів плазми він перетворюється в фібрин, який бере участь в утворенні кров'яного згустку і тромбу. Уміст фібриногену в плазмі крові є важливим діагностичним маркером тромбозу та запалення, безпосередньо пов'язаний з серцево-судинними захворюваннями. Фібриноген є також білком гострої фази, його концентрація в крові підвищується при захворюваннях, що супроводжуються пошкодженням тканин і запаленням. Визначення рівня фібриногену в складі коагулограми має значення в діагностиці захворювань з підвищеною кровотечею або тромбоутворенням, а також для оцінки синтетичної функції печінки й ризику ускладнень серцево-судинних захворювань [14].

Отже, встановлені підвищені рівні фібриногену в крові дослідних щурів, яким вводили колоїдні розчини Fe_2O_3 , можуть вказувати на їхній вплив на кінцевий етап згортання крові (утворення фібрину з фібриногену), а також на розвиток запального процесу.

На активацію утворення тромбів може вказувати підвищення ПТІ, особливо після введення Fe_2O_3 400 нм (1,3 разу). За впливу обох розчинів Fe_2O_3 показник тромбіновий час скоротився вдвічі (табл. 2).

Отже, встановлені підвищені рівні фібриногену в крові дослідних щурів, яким вводили колоїдні розчини Fe_2O_3 , можуть вказувати на підвищене утворення тромбів і ризик розвитку серцево-судинних ускладнень, а також на наявність запального процесу. На підвищене утворення тромбів може вказу-

вати зниження міжнародного нормалізованого відношення (МНВ) та підвищення ПТІ, яке було визначено після введення Fe_2O_3 400 нм.

За умови моделювання субхронічної інтоксикації у дослідних щурів, яким вводили Fe_2O_3 19 нм, виявлено достовірне підвищення (у 2 рази) рівня ЦПП, незначне зниження кількості еритроцитів і концентрації гемоглобіну (на 10,0 %) та гематокриту (на 11,0 %). Після 30 введень розчину оксиду заліза, частинки якого були розміром 400 нм, визначено зниження числа еритроцитів, рівня гемоглобіну та гематокриту (на 18,2 %, 8,0 % і 4,0 % порівняно з контрольними показниками) (табл. 3).

У 1-й дослідній групі щурів після 30 введень Fe_2O_3 19 нм спостерігали достовірне зниження кількості лейкоцитів і еозинофілів (на 52,0 % і 34,0 %, $p < 0,05$ порівняно з показниками в контрольній групі тварин). Кількість лімфоцитів, моноцитів та нейтрофілів у крові дослідних щурів цієї групи суттєво не відрізнялась від контрольних значень. Після введення колоїдного розчину Fe_2O_3 з частинками 400 нм було виявлено достовірне підвищення чисельності моноцитів і нейтрофілів сегментоядерних (на 35,1 % і 21,0 %, $p < 0,05$ порівняно з показниками в контрольній групі тварин) (табл. 3). Такі зміни клітинного складу крові можуть вказувати на активацію клітин неспецифічного природного імунітету та формування запальної реакції.

Дослідження показників системи згортання крові показало, що в обох дослідних групах щурів порівняно з контрольною встановлено підвищену кількість тромбоцитів (на 11,4 % і 51,6 %), а також тромбокриту (на 24,5 % і 46,9 %) ($p < 0,05$).

Як відомо, окрім тромбоцитів у каскаді біохімічних реакцій, результатом яких є утворення фібринового згустку, беруть участь компоненти плазми (фактори згортання).

Таблиця 2

Зміни коагулометричних показників периферичної крові щурів після одноразового інтратрахеального введення колоїдних розчинів Fe_2O_3 з частинками 19 нм і 400 нм, ($M \pm m$, $n = 10$)

Показник	Група тварин		
	контрольна	Fe_2O_3 19 нм	Fe_2O_3 400 нм
Фібриноген, мг/дл	258,4 ± 8,7	744,4 ± 56,4*	709,4 ± 37,8*
Протромбіновий час, с	18,3 ± 1,3	15,9 ± 0,3	16,3 ± 0,4
Протромбіновий індекс, %	55,3 ± 1,2	57,8 ± 1,5	68,4 ± 3,8*
Активованний частковий тромбопластиновий час, с	19,9 ± 1,2	19,5 ± 0,3	17,7 ± 0,8
Тромбіновий час, с	14,2 ± 2,4	7,9 ± 0,2*	7,4 ± 0,2*

Примітка. Тут і в табл. 4: *позначена достовірна відмінність ($p < 0,05$) показників у дослідних групах порівняно з такими в контрольній групі тварин.

Таблиця 3

Показники периферичної крові контрольних і дослідних щурів після 30 введень колоїдних розчинів Fe_2O_3 різної дисперсності ($M \pm m$, $n = 10$)

Показник	Група тварин		
	контрольна	Fe_2O_3 19 нм	Fe_2O_3 400 нм
Цинкпротопорфірин, мМ/М гему	70,75 $\pm$ 4,38	135,63 $\pm$ 2,58*	70,75 $\pm$ 4,38
Гемоглобін, г/л	157,10 $\pm$ 2,80	141,50 $\pm$ 0,19 [#]	145,10 $\pm$ 1,50 [#]
Еритроцити, 10^9 /мл	9,25 $\pm$ 0,33	8,18 $\pm$ 0,09 [#]	7,61 $\pm$ 0,28*
Гематокрит, %	49,27 $\pm$ 0,97	44,22 $\pm$ 0,55 [#]	47,59 $\pm$ 0,75
Лейкоцити, 10^6 /мл	11,88 $\pm$ 0,99	5,74 $\pm$ 0,38*	11,77 $\pm$ 0,94
Лімфоцити, %	61,05 $\pm$ 3,83	65,81 $\pm$ 3,06	62,87 $\pm$ 3,83
Моноцити, %	5,87 $\pm$ 0,33	4,73 $\pm$ 0,40	7,93 $\pm$ 0,57*
Нейтрофіли с/я, %	26,89 $\pm$ 4,01	22,59 $\pm$ 1,15	32,52 $\pm$ 1,64*
Нейтрофіли п/я, %	2,70 $\pm$ 0,31	2,52 $\pm$ 0,41	2,33 $\pm$ 0,42
Еозенофіли, %	2,29 $\pm$ 0,31	1,52 $\pm$ 0,41*	2,0 $\pm$ 0,68
Тромбоцити, 10^6 /мл	586,6 $\pm$ 19,9	653,6 $\pm$ 12,9	889,6 $\pm$ 22,4*
Тромбокрит, %	0,49 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,03*	0,72 $\pm$ 0,04*

Результати дослідження показали, що після 30-разового введення піддослідним щурам колоїдних розчинів оксиду заліза Fe_2O_3 з розмірами частинок 19 нм і 400 нм спостерігали суттєві зміни показників коагулограми порівняно з контрольною групою тварин. Слід відзначити, що як в 1-й, так і в 2-й дослідних групах визначено підвищення рівня фібриногену (на 23,0 % і 8,3 % відповідно), зниження ПТІ (на 46,2 % і 12,2 %), зменшення тромбінового часу (на 26,7 % і 56,3 %, ($p < 0,05$) (табл. 4).

Отже, отримані нами дані кореспондують з даними літератури [4, 15] і свідчать про те, що наночастинки Fe_2O_3 за умови тривалого 30-разового введення щурам впливали як на клітинні (підвищення числа тромбоцитів), так і на гуморальні компонен-

ти системи згортання крові (підвищення рівня фібриногену, тромбінового часу), що вказують на гіперкоагуляційні властивості НЧ оксиду заліза та підвищений ризик тромбоутворення.

Після обробки первинних даних, отриманих у ході проведення експериментів, та аналізу результатів кожної з досліджуваних моделей, було проведено порівняльний аналіз змін показників периферичної крові відносно показників у контрольних групах, для кожної моделі з урахуванням розміру частинок у колоїдних розчинах Fe_2O_3 (рис. 1). Такий аналіз дозволяє виявити найбільш значущі зміни окремих показників крові для кожної моделі та оцінити ступінь токсичного впливу залежно від розмірів частинок, отриманої дози та термінів їхнього впливу на організм.

Таблиця 4

Зміни коагулометричних показників периферичної крові щурів після 30 введень колоїдних розчинів Fe_2O_3 різної дисперсності ($M \pm m$)

Показник	Група тварин		
	контрольна	Fe_2O_3 19 нм	Fe_2O_3 400 нм
Фібриноген, мг/дл	240,0 $\pm$ 6,1	295,4 $\pm$ 5,0*	260,0 $\pm$ 6,0
Протромбіновий час, с	18,0 $\pm$ 1,3	16,5 $\pm$ 0,3	15,5 $\pm$ 0,4
Протромбіновий індекс, %	87,2 $\pm$ 2,4	47,0 $\pm$ 1,6*	76,6 $\pm$ 1,3*
Активований частковий тромбопластиновий час, с	20,2 $\pm$ 1,2	17,5 $\pm$ 0,3	16,7 $\pm$ 0,6
Тромбіновий час, с	60,0 $\pm$ 0,7	44,0 $\pm$ 1,0*	26,2 $\pm$ 0,4*

Порівняння змін показників відносно контролю показало, що для обох моделей значущими показниками є вміст ЦПП, загальна концентрація гемоглобіну та кількість еритроцитів у крові. Отримані результати свідчать про суттєві порушення в процесах кровотворення. При обох моделях у щурів усіх дослідних груп розвивалася анемія, хоча і внаслідок різного механізму дії НЧ. Так, різке зниження кількості еритроцитів у тварин, яким вводили Fe_2O_3 400 нм, може бути пов'язане не так з їхньою цитотоксичною дією, як з порушенням процесу кровотворення (рис. 1).

У ході дослідження було встановлено суттєве зниження загальної кількості лейкоцитів при інтоксикації НЧ Fe_2O_3 19 нм та зростання частки моноцитів в лейкоцитарній формулі при дії частинок Fe_2O_3 400 нм, що може свідчити про активацію клітин макрофагально-моноцитарного ряду, які є складовою природного імунітету й виконують фагоцитарну функцію, направлену на елімінацію чужорідних агентів (рис. 2).

При моделюванні гострої інтоксикації інтратрахеальним введенням розчинів Fe_2O_3 було зафіксо-

вано зростання тромбокриту на тлі відносно невеликої зміни кількості тромбоцитів, тоді як при субхронічній інтоксикації Fe_2O_3 з частинками 400 нм фіксувалося зростання як тромбокриту, так і кількості тромбоцитів у 1,5 разу. Також за гострої інтоксикації фіксувалося більше зростання кількості фібриногену, ніж за субхронічної, що є ознакою більшого ризику розвитку тромбозів у першому випадку, однак разом з тим суттєве зменшення АЧТЧ, що корелює зі зростанням кількості тромбоцитів, за субхронічної інтоксикації Fe_2O_3 400 нм також свідчить про високий ризик утворення тромбів внаслідок зменшення в'язкості крові (рис. 3).

Встановлені суттєві зміни показників, що характеризують стан клітин тромбоцитарного ряду та показників коагулограми, свідчать про серйозні порушення в системі згортання крові та підтримки її агрегатного стану.

Таким чином, отримані результати дослідження змін у складі периферичної крові та її коагулометричних показників за впливу колоїдних розчинів Fe_2O_3 з частинками різної дисперсності дозволяють дійти наступних висновків.

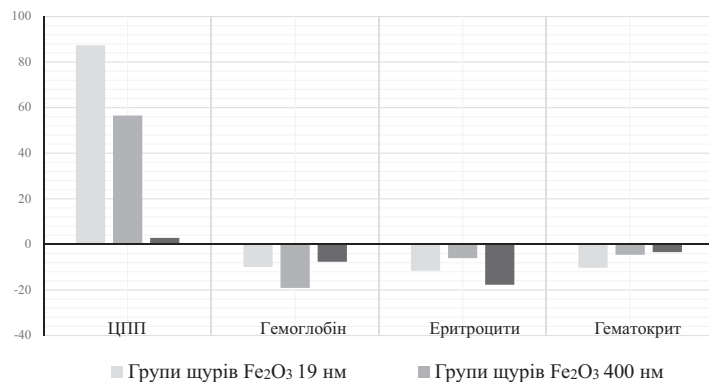


Рис. 1. Зміни показників периферичної крові відносно контрольних груп у відсотках для кожної моделі з урахуванням розміру частинок у колоїдних розчинах Fe_2O_3

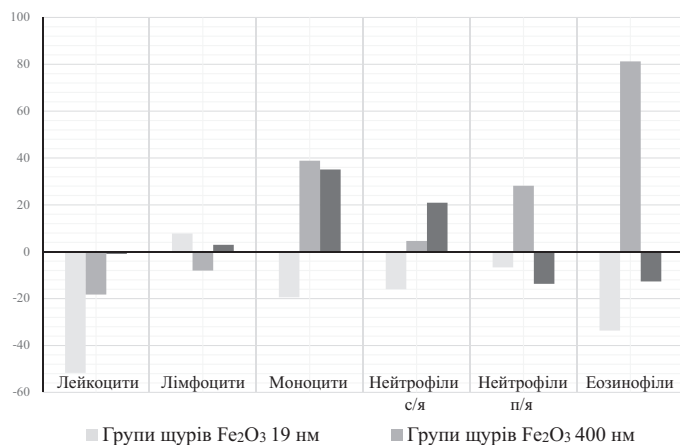


Рис. 2. Зміни показників периферичної крові (лейкоцитарної формули) відносно контрольних груп у відсотках для кожної моделі з урахуванням розміру частинок у колоїдних розчинах Fe_2O_3

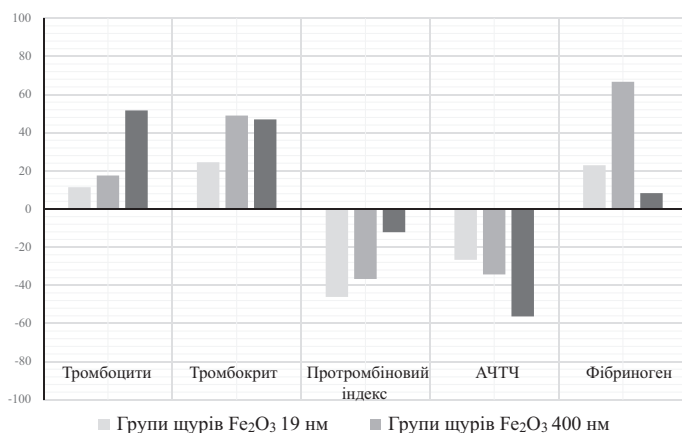


Рис. 3. Порівняльний аналіз змін показників згортання крові відносно контрольних груп у відсотках для кожної моделі з урахуванням розміру частинок у колоїдних розчинах Fe₂O₃

Висновки

1. Одноразове інтратрахеальне введення колоїдних розчинів Fe₂O₃ викликало зміни гематологічних показників (збільшення рівня ЦПП і зниження гемоглобіну, зменшення кількості еритроцитів та тромбоцитів, гематокриту, кількості лейкоцитів, збільшення моноцитів), що свідчать про порушення процесів гемопоєзу та синтезу гемоглобіну.
2. Тривала інтоксикація дрібнодисперсними частинками Fe₂O₃ призводить до суттєвого зниження загальної кількості еритроцитів та лейкоци-

тів, що разом з порушенням процесу синтезу гемоглобіну може призвести до розвитку анемії.

3. Як гостра, так і хронічна інтоксикація Fe₂O₃ спричиняли зміни показників, що характеризують стан клітин тромбоцитарного ряду та коагулограми, які свідчать про серйозні порушення в системі згортання крові, про високий ризик утворення тромбів внаслідок зменшення в'язкості крові. Це припущення потребує подальшого розширення токсикологічних досліджень безпечності штучно синтезованих НЧ Fe₂O₃ медичного призначення для здоров'я людини.

Література

1. Faraji M., Yamini Y., Rezaee M. Magnetic nanoparticles: synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and applications. *J. Iran. Chem. Soc.* 2010. Vol. 7, № 1. P. 1–37. <https://doi.org/10.1007/BF03245856>.
2. Чехун В. Ф. Создание новых лекарственных форм на основе наноконструктивных материалов для решения современных проблем онкологии. *Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии: сб. наук. праць*. Київ, 2011. Т. 9, Вип. 1. С. 261–274.
3. Трахтенберг І. М., Дмитруха Н. М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості. *Український журнал з проблем медицини праці*. 2013. № 4 (37). С. 62–74.
4. Toxicology studies of a superparamagnetic iron oxide nanoparticle *in vivo*. S. Y. Liu et al. *Adv. Mater. Res.* 2008. Vol. 47–50. P. 1097–1100. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.47-50.1097>.
5. Экспериментальные данные к оценке пульмоно-токсичности и резорбтивной токсичности частиц магнетита (Fe₃O₄) нано- и микрометрового диапазона. Б. А. Канцельсон, Л. И. Привалова, С. В. Кузьмин и др. *Токсикологический вестник*. 2010. № 2. С. 17–24.
6. Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron-sized ferric oxide in rats.

M. T. Zhu, W. Y. Feng, B. Wang et al. *Toxicology*. 2008. Vol. 247, Iss. 2–3. P. 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.02.011>.

7. Морфофункціональні зміни у внутрішніх органах щурів при тривалому введенні у черевну порожнину наночастинок оксиду заліза (Fe₂O₃). С. П. Луговський, Н. М. Дмитруха, М. М. Діденко, Л. В. Бакало, О. С. Лагутіна та ін. *Український журнал з проблем медицини праці*. 2019. Т. 15, № 3. С. 228–239. <https://doi.org/10.33573/ujoh2019.03.228>.

8. Профілактична токсикологія та медична екологія. Вибрані лекції для науковців, лікарів та студентів: за загальною редакцією академіка НАМН України І. М. Трахтенберга. Київ: ВД «Авіцена», 2010. 248 с. ISBN 978-966-2144-27-7.

9. Мислицький В. Ф., Подолян С. К. Патологічні зміни тромбоцитарно-судинного та коагуляційного гемостазу під впливом хлористого свинцю та їх корекція за допомогою синтетичного аналога простагліну. *Фізіологічний журнал*. 1999. № 4. С. 99–104.

10. Влияние наночастиц оксида железа (III) на свертываемость крови по данным светорассеяния. М. Н. Кириченко, Н. А. Бульчев, Л. Л. Чайков и др. XIII International Conference on pulsed lasers and laser applications AMPL-2017 September 10–15, 2017, Tomsk, Russia.

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

12. Антамонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. 2-е изд. Киев : 2017. 576 с.

13. Механізми гематотоксичної дії сполук свинцю. О. Л. Апіхтіна, Н. М. Дмитруха, А. В. Коцюрба та ін. Журнал НАН України. 2012. Т. 18. № 1. С. 100–109.

14. Зубаиров Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань : Фэн, 2010. 364 с.

15. Intraperitoneal injection of magnetic Fe_3O_4 – nanoparticle includes hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in mice. P. Ma, Q. Luo, J. Chen et al. *Int. J. Nanomedicine*. 2012. Vol. 7. P. 4809–4818. <https://doi.org/10.2147/IJN.S34349>.

Трахтенберг И. М., Дмитруха Н. Н., Лагутина О. С., Короленко Т. К., Легкоступ Л. А., Герасимова О. В.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМАТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА Fe_2O_3 ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО И ДЛИТЕЛЬНОГО ПОСТУПЛЕНИЯ В ОРГАНИЗМ КРЫС

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

Введение. Наночастицы оксида железа (НЧ Fe_2O_3) благодаря особым магнитным свойствам используются в промышленности как катализаторы, а также в медицине для лечения и диагностики онкологических заболеваний. Учитывая малые размеры НЧ и повышенную биологическую активность, аккумуляцию во внутренних органах и медленную элиминацию, исследование их влияния на организм является важной медико-биологической проблемой.

Цель исследования – изучение влияния оксида железа Fe_2O_3 с микро- и наночастицами на состав и коагулометрические показатели периферической крови при моделировании острой и субхронической интоксикаций у крыс.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись коллоидные растворы Fe_2O_3 с частицами 19 нм и 400 нм; крысы самцы линии Вистар ($n = 30$), разделенные на 3 группы ($n = 10$). 1-й опытной группе крыс вводили раствор НЧ Fe_2O_3 19 нм; 2-й группе – раствор Fe_2O_3 с частицами 400 нм; контрольной группе животных вводили 0,9 % физраствор. Определение состава периферической крови выполнено с помощью гематологического анализатора Elite 3 (Чехия), показателей коагулограммы на приборе Hemaclot Junior (Германия). Исследование выполнено после однократного интратрахеального и 30-кратного внутрибрюшинного введения коллоидных растворов Fe_2O_3 .

Результаты. Установлено, что однократное интратрахеальное введение коллоидных растворов Fe_2O_3 вызвало изменения гематологических показателей (снижение уровня гемоглобина, уменьшение количества эритроцитов и тромбоцитов, гематокрита, количества лейкоцитов, увеличение моноцитов), что свидетельствует о нарушении процессов гемопоэза и синтеза гемоглобина. Длительная интоксикация мелкодисперсными частицами Fe_2O_3 приводила к существенному снижению общего количества эритроцитов и лейкоцитов, что вместе с нарушением процесса синтеза гемоглобина может привести к развитию анемии. Как острая, так и субхроническая интоксикация Fe_2O_3 приводили к изменению показателей, характеризующих состояние клеток тромбоцитарного ряда и коагулограммы, свидетельствующие о нарушении в системе свертывания крови и высоком риске образования тромбов вследствие уменьшения вязкости крови.

Выводы. Острая интоксикация Fe_2O_3 вызвала угнетение эритропоэза, нарушение процесса синтеза гемоглобина, повышение свертываемости крови. Длительное поступление растворов Fe_2O_3 в организм крыс характеризовалось более отчетливым влиянием на все исследуемые показатели крови, что указывает на развитие анемии, стимуляцию клеток макрофагально-моноцитарного ряда и повышенный риск тромбообразования. Полученные данные свидетельствуют о наличии различий в способности микро- и наночастиц Fe_2O_3 влиять на состав периферической крови, процесс синтеза гемоглобина и показатели свертывающей системы крови.

Ключевые слова: оксид железа, микро- и наночастицы, периферическая кровь, гематотоксичность

Trachtenberg I. M., Dmytrukha N. M., Lahutina O. S., Korolenko T. K., Lehkostup L. A., Herasimova O. V. INVESTIGATION OF HEMATOTOXIC EFFECT OF MICRO- AND NANOPARTICLES OF IRON OXIDE Fe_2O_3 UNDER SINGLE AND LONG-TERM INTAKE INTO THE BODY

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

Introduction. Due to its specific magnetic properties, iron oxide nanoparticles (NP Fe_2O_3) are used in industry as catalysts, as well as in medicine for the cancer diagnosis and treatment. Given the small size of NP and their increased biological activity, accumulation in internal organs slow elimination, the study of their impact on the body is an important medical and biological problem.

The aim of the study was to analyze the effect of iron oxide Fe_2O_3 with micro- and nanoparticles on the composition and coagulometric parameters of the peripheral blood in the simulation of acute and sub-chronic intoxication in rats.

Materials and methods of research. The object of the study consists in Fe_2O_3 solutions with particles of 19 nm and 400 nm; male Wistar rats ($n = 30$), which were divided into 3 groups ($n = 10$). The 1st experimental group of rats was injected with a solution of NP Fe_2O_3 19 nm; 2nd group – Fe_2O_3 solution with particles of 400 nm; the control group of animals was injected with 0.9 % saline. Determination of the peripheral blood composition was performed using a hematology analyzer Elite 3 (Czech Republic), coagulogram indicators on the device Humaclo Junior (Germany). The study was performed after a single intratracheal and 30-fold intraperitoneal intake of Fe_2O_3 solutions.

Results. It was found that a single intratracheal injection of colloidal Fe_2O_3 solutions caused changes in hematological parameters (decreased hemoglobin, decreased erythrocytes and platelets, hematocrit, leukocytes, increased monocytes), indicating impaired hematopoiesis and hemoglobin synthesis. The prolonged intoxication with Fe_2O_3 particles led to a significant decrease in the total number of erythrocytes and leukocytes due to the damage of hematopoietic organs, which combined with disruption of hemoglobin synthesis can lead to anemia. Both acute and subchronic Fe_2O_3 intoxication have resulted in changes in platelet cell status and coagulogram, that indicate serious disorders of the blood coagulation system and a high risk of blood clots due to the reduced blood viscosity.

Conclusions. Acute Fe_2O_3 intoxication caused suppression of erythropoiesis, hemoglobin synthesis and increased blood clotting. Prolonged intake of Fe_2O_3 solutions in rats was characterized by a more distinct effect on all studied blood parameters, which indicates the anemia development, stimulation of macrophage-monocyte cells and increased risk of thrombosis. The obtained data indicate differences in the ability of Fe_2O_3 micro- and nanoparticles to affect the composition of peripheral blood, the process of hemoglobin synthesis and indicators of the blood coagulation system.

Key words: iron oxide, micro- and nanoparticles, peripheral blood, hematotoxicity

References

- Faraji, M., Yamini, Y. and Rezaee M. (2010), «Magnetic nanoparticles: synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and applications», *J. Iran. Chem. Soc.*, Vol. 7, No. 1, pp. 1–37.
- Chekhun, V. F. (2011), «Sozdanye novykh lekarstvennykh form na osnove nanokompozytnykh materialov dlia resheniya sovremennykh problem onkologiy», *Nanosystemy, nanomaterialy, nanotekhnologii: Zh. nauk. Prats.*, T. 9, vyp. 1, pp. 261–274.
- Trakhtenberh, I. M. and Dmytrukha, N. M. (2013), «Nanochastyntsy metaliv, metody otrymannia, sfery zastosuвання, fizyko-khimichni ta toksychni vlastyivosti», *Ukrainian Journal of Occupational Health*, No. 4 (37), pp. 62–74, <https://doi.org/10.33573/ujoh2013.04.062>.
- Liu, S. Y. et al. (2008), «Toxicology studies of a superparamagnetic iron oxide nanoparticle *in vivo*», *Adv. Mater. Res.*, Vol. 47–50, pp. 1097–1100, <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.47-50.1097>.
- Kantselson, B. A., Pryvalova, L. Y., Kuzmyn, S. V., Dehtiareva, T. D. et al. (2010), «Eksperymentalnye dannye k otsenke pulmonotoksichnosti y rezorbtivnoi toksichnosti chastyts mahnetyta (Fe_3O_4) nano- i mykrometrovoho dyapazona», *Toksykologicheskyy vestnyk*, No. 2, pp. 17–24.
- Zhu, M. T., Feng, W. Y., Wang, B. et al. (2008), «Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron-sized ferric oxide in rats», *Toxicology*, Vol. 247, Iss. 2–3, pp. 102–111, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.02.011>.
- Luhovskiy, S. P., Dmytrukha, N. M., Didenko, M. M., Bakalo, L. V., Lahutina, O. S. and Melnyk, N. A. (2019), «Morfo-funktsionalni zminy u vnutrishnikh orhanakh shchuriv pry tryvalomu vvedenni U cherevnu porozhnyu nanochastyntok oksydu zaliza (Fe_2O_3)», *Ukrainian Journal of Occupational Health*, Vol. 15, No. 3, pp. 228–239, <https://doi.org/10.33573/ujoh2019.03.228>.
- Profilaktychna toksykologhiia ta medychna ekolohiia. Vybrani lektsii dlia naukovtsiv, likariv ta studentiv: za zahalnoiu redaktsiieiu akademika NAMN Ukrainy I. M. Trakhtenberha (2010), VD «Avitsena», Kyiv, 248 p.
- Myslytskiy, V. F. and Podolian, S. K. (1999), «Patolohichni zminy trombotsytarno-sudynnoho ta koahuliatsiinoho hemostazu pid vplyvom khlorystoho svyntsiu ta yikh korektsiia za dopomohoiu syntetychnoho analoha prostatsyklinu», *Fiziologichnyi zhurnal*, No. 4, pp. 99–104.
- Kyrychenko, N. A., Bulychyev, L. L., Chaikov, M. A., Kazarian, M. A. and Masalov, M. N. (2017), «Vlyanye nanochastyts oksyda zheleza (III) na svertyvaemost krovy po dannym svetorasseiannya», XIII International Conference on pulsed lasers and laser applications AMPL-2017 September 10–15, Tomsk, Russia.
- European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes (1986), Council of Europe. Strasbourg, 53 p.
- Antamonov, M. Iu. (2017), *Matematycheskaia obrabotka y analiz medyko-byolohicheskyykh dannykh. 2-e yzd.* Kyiv, 576 p.
- Apykhtina, O. L., Dmytrukha, N. M., Kotsiuruba, A. V., Korkach, Yu. P. and Lubianova, I. P. (2012), «Mekhanizmy hematotoksichnoi dii spoluk svyntsiu», *Zhurnal NAN Ukrainy*, Vol. 18, No. 1, pp. 100–109.
- Zubayrov, D. M. (2010), *Molekuliarnye osnovy svertyvaniya krovy i tromboobrazovaniya.* Fen. Kazan, 364 p.
- Ma, P., Luo, Q., Chen, J. et al. (2012), «Intraperitoneal injection of magnetic Fe_3O_4 – nanoparticle includes hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in mice», *Int. J. Nanomedicine*, Vol. 7, pp. 4809–4818, <https://doi.org/10.2147/IJN.S34349>.

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

Трахтенберг І. М. (ORCID ID 0000-0003-10861-8279) – формулювання висновків;

Дмитруха Н. М. (ORCID ID 0000-0001-9161-3889) – аналіз результатів дослідження, написання статті та підготовка її до друку;

Лагутіна О. С. (ORCID ID 0000-0003-0723-1293) – участь у токсикологічному експерименті, забір біоматеріалу, виконання гематологічних досліджень;

Короленко Т. К. (ORCID ID 0000-0003-1390-4132) – участь у токсикологічному експерименті, проведення коагулометричних досліджень;

Легкоступ Л. А. (ORCID ID 0000-0002-8352-5616) – моделювання інтоксикацій, забір біоматеріалу;

Герасімова О. В. (ORCID ID 0000-0001-5339-4291) – участь у токсикологічному експерименті, статистична обробка отриманих результатів.

Інформація щодо джерел фінансування дослідження: дослідження виконано за темою «Дослідження механізмів кардіо-вазотоксичної дії наночастинок важких металів (до проблеми біобезпеки наноматеріалів)»,

№ держреєстрації 0119U100182.

Надійшла: 9 листопада 2021 р.

Прийнята до друку: 2 грудня 2021 р.

Контактна особа: Дмитруха Н. М., ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва НАМНУ», буд.75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 44 289 51 85.