



Шеломенцев И.Г., Амромин Л.А., Шаихова Д.Р., Сутункова М.П.,  
 Минигалиева И.А.

## Оценка нейротоксического эффекта наночастиц оксида железа (III) на субклеточном уровне

ФБУН «Екатеринбургский медицинский—научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 620014, Екатеринбург, Россия

**Введение.** Наночастицы являются продуктом как естественного, так и искусственного происхождения, могут присутствовать в окружающей среде в высоких концентрациях и рассматриваются как фактор, способный оказывать токсическое воздействие на организм человека. Преодоление металлосодержащими наночастицами гематоэнцефалического барьера доказано и представляет интерес с точки зрения промышленной токсикологии и гигиены.

**Материалы и методы.** Экспозиция наночастицами оксида железа (III) была осуществлена на крысах-самках интраназально. В контрольную и опытную группы включали одинаковое число животных (7). Наночастицы в виде суспензии 0,25 мг/мл вводили крысам в каждый носовой проход по 50 мкл три раза в неделю в течение 6 нед. Образцы ткани для исследования были взяты из обонятельных луковиц мозга крыс. Идентификацию наночастиц оксида железа (III) проводили методом электронной микроскопии и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии. Цитотоксическое действие наночастиц оксида железа (III) оценивалось путём ранжирования митохондрий по морфотипам митохондриальной мембраны и сравнения их распределения у опытной и контрольной групп животных.

**Результаты.** Подтверждено наличие наночастиц в тканях обонятельных луковиц мозга крыс. Морфотипический состав митохондрий показал существенные изменения после экспозиции наночастицами оксида железа (III): доля митохондрий с нормальным и везикулярно набухшим морфотипами снизилась на 36,4 и 4,9% соответственно по сравнению с контрольной группой животных, доля митохондрий нормально-везикулярного и везикулярного морфотипов повысилась на 19,8 и 21,8%, доля везикулярно набухших митохондрий снизилась с 9,5 до 4,6%.

**Ограничения исследования.** Исследование было ограничено изучением ультраструктурных нарушений митохондрий и идентификацией наночастиц оксида железа (III) в тканях.

**Заключение.** Дальнейшие исследования воздействия на структуру и функции митохондриального аппарата железосодержащих наночастиц могут способствовать выявлению их потенциальной опасности на субклеточном уровне и дать информацию для разработки мер защиты населения, формирования новых стратегий профилактики и лечения токсико-индуцированных патологий.

**Ключевые слова:** наночастицы; оксид железа (III); головной мозг; обонятельные луковицы; нейротоксичность; митохондрии; цитотоксичность; электронная микроскопия

**Соблюдение этических стандартов.** Животные содержались в соответствии с Женевской конвенцией International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS и ICLAS). Исследование одобрено на заседании локального этического комитета ФБУН «Екатеринбургский медицинский—научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (№ 2 от 20 апреля 2020 г.).

**Для цитирования:** Шеломенцев И.Г., Амромин Л.А., Шаихова Д.Р., Сутункова М.П., Минигалиева И.А. Оценка нейротоксического эффекта наночастиц оксида железа (III) на субклеточном уровне. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(7): 720–725. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-7-720-725> <https://elibrary.ru/ncomny>

**Для корреспонденции:** Шеломенцев Иван Глебович, науч. сотр. ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП», 620014, Екатеринбург. E-mail: shelomencev@ymrc.ru

**Участие авторов:** Сутункова М.П. — концепция и дизайн исследования; Минигалиева И.А. — концепция и дизайн исследования; Шеломенцев И.Г. — сбор и анализ данных, интерпретация результатов, литературный обзор, подготовка рукописи; Амромин Л.А. — сбор и анализ данных, интерпретация результатов, литературный обзор, подготовка рукописи; Шаихова Д.Р. — сбор и анализ данных, интерпретация результатов, литературный обзор, подготовка рукописи. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 21.02.2023 / Принята к печати: 07.06.2023 / Опубликована: 30.08.2023

Ivan G. Shelomentsev, Lev A. Amromin, Daria R. Shaikhova, Marina P. Sutunkova,  
 Ilzira A. Minigalieva

## Assessment of the neurotoxic effect of iron (III) oxide nanoparticles at the subcellular level

Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumer Rights and Human Welfare, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation

**Introduction.** Both naturally occurring and artificially produced nanoparticles are ubiquitous; their high concentrations can be detected in the environment, thus posing risks of toxic effects in humans. Penetrating the blood-brain barrier by metal nanoparticles has been already proven and is currently of interest from the point of view of toxicology and hygiene.

**Materials and methods.** Female rats were exposed to ferric oxide nanoparticles administered intranasally with a 25 mg/ml suspension at a dose of 50 µl three times a week during six weeks. The experimental and control groups contained seven animals each. Tissue samples for testing were taken from the olfactory bulbs of the rat's brain. Iron (III) oxide nanoparticles were identified by electron microscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy. The cytotoxic effect of ferric oxide nanoparticles was assessed by ranking mitochondria by mitochondrial membrane morphotypes and comparing their distribution in the experimental and control groups.

**Results.** We confirmed the presence of nanoparticles in tissues of the olfactory bulbs of the exposed rodents. The morphotype pattern of mitochondria showed significant changes following the exposure to ferric oxide nanoparticles: the proportion of mitochondria with normal and vesicular swollen morphotypes decreased by 36.4 and 4.9%, respectively, compared with the control group of animals, the proportion of mitochondria with normal vesicular and vesicular morphotypes increased by 19.8 and 21.8%, while the proportion of vesicular swollen mitochondria decreased from 9.5% to 4.6%.

**Limitations.** The study was limited to examining ultrastructural changes in mitochondria and identifying ferric oxide nanoparticles in tissues.

**Conclusions.** Further studies of the impact of iron-containing nanoparticles on the structure and functions of the mitochondrial apparatus can help to identify their potential harm at the subcellular level and provide information for the development of appropriate health protective measures and new strategies for prevention and treatment of metal toxicity-induced diseases in humans.

**Keywords:** nanoparticles; ferric oxide; brain; olfactory bulbs; mitochondria; cytotoxicity; electron microscopy

**Compliance with ethical standards:** The animals were kept in accordance with the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS and ICLAS). The study approval was provided by the Local Ethics Committee of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers (Minutes No. 2 of April 20, 2020).

**For citation:** Shelomentsev I.G., Amromin L.A., Shaikhova D.R., Sutunkova M.P., Minigalieva I.A. Assessment of the neurotoxic effect of iron (III) oxide nanoparticles at the subcellular level. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102 (7): 720–725. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-7-720-725> <https://elibrary.ru/neoommy> (In Russ.)

**For correspondence:** Ivan G. Shelomentsev, Researcher, Department of Molecular Biology and Electron Microscopy, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: shelomencev@ymrc.ru

#### Information about the authors:

Shelomentsev I.G., <https://orcid.org/0000-0002-8795-8777>

Amromin L.A., <https://orcid.org/0000-0001-7703-5103>

Shaikhova D.R., <https://orcid.org/0000-0002-7029-3406>

Sutunkova M.P., <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642>

Minigalieva I.A., <https://orcid.org/0000-0002-1871-8593>

**Contribution:** Sutunkova M.P., Minigalieva I.A. — study conception and design; Shelomentsev I.G., Amromin L.A., Shaikhova D.R. — data collection, analysis and interpretation of results, literature review, draft manuscript preparation. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version

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

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received: February 21, 2023 / Accepted: June 7, 2023 / Published: August 30, 2023

## Введение

Основу обеспечения химической безопасности Российской Федерации составляют меры охраны здоровья граждан от воздействия опасных химических факторов среды<sup>1,2</sup>. В связи с широким развитием и внедрением нанотехнологий особую актуальность приобретает оценка воздействия техногенных наночастиц (НЧ)<sup>3</sup>. Металлосодержащие НЧ могут являться продуктом термической и (или) механической обработки металлов, руд и других металлосодержащих материалов<sup>4</sup>.

Известно, что богатые железом НЧ оказывают токсическое действие на организм, в том числе на репродуктивную систему, щитовидную железу и систему мононуклеарных фагоцитов. Данное утверждение подкреплено результатами исследований *in vivo* и данными эпидемиологических исследований [1–3]. Имеются данные о потенциальной нейротоксичности железосодержащих НЧ вследствие способности проникать через гематоэнцефалический барьер и повреждать его, накапливаться в головном мозге, вызывать поражение центральной нервной системы, нарушения поведенческих реакций и памяти [4–9]. Исследования также показали, что пероральное и интраназальное воздействие НЧ железа способно привести к отёку ткани головного мозга и повреждению полосатого тела [10, 11]. Из вышеизложенного можно сделать вывод о важности исследований токсического воздействия железосодержащих НЧ и его механизмов на всех уровнях организма, а также о необходимости применения современных методов изучения такого воздействия.

Митохондрии играют важную роль в клеточном метаболизме и производстве энергии, и их дисфункция может иметь множественные негативные эффекты на клетки и органы [12]. Воздействие токсинов окружающей среды может нарушить функцию митохондрий и способствовать развитию ассоциированных с данным процессом патологий [13].

Митохондрии также участвуют в процессе запрограммированной клеточной гибели (апоптозе) и при повреждении могут высвобождать проапоптотические белки, запускающие каскад гибели клеток. Этот процесс необходим для поддержания клеточного гомеостаза и предотвращения накопления повреждённых или аномальных клеток [14], однако чрезмерный апоптоз вследствие митохондриальной дисфункции может способствовать развитию различных патологий [15]. В качестве метода, позволяющего оценить индукцию апоптотических процессов на субклеточном уровне, может выступать анализ митохондриального профиля посредством электронной микроскопии [16].

**Цель исследования** — определить, способны ли НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> в низких дозах при интраназальном введении лабораторным животным в виде суспензии оказывать цитотоксическое воздействие на нейроны, проникая в клетки обонятельных лукович.

## Материалы и методы

**Дизайн эксперимента.** Суспензия НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> была синтезирована методом лазерной абляции в стерильной деионизированной воде. Средний диаметр использованных НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> составил 18 ± 4 нм, концентрация суспензии — 0,25 мг/мл. Эксперимент проводился на аутбредных крысах-самках собственного разведения ( $n = 14$ , возраст 3–4 мес к началу эксперимента, масса около 200 г). Введение НЧ животным осуществлялось интраназально без анестезии [17]. Суспензия вводилась в каждый носовой ход по 50 мкл три раза в неделю. Общая длительность экспозиции — 6 нед, суммарная доза за весь период — 0,45 мг на одну крысу. Контрольной группе вводили деионизированную воду в том же объёме. Эвтаназия осуществлялась методом быстрой декапитации.

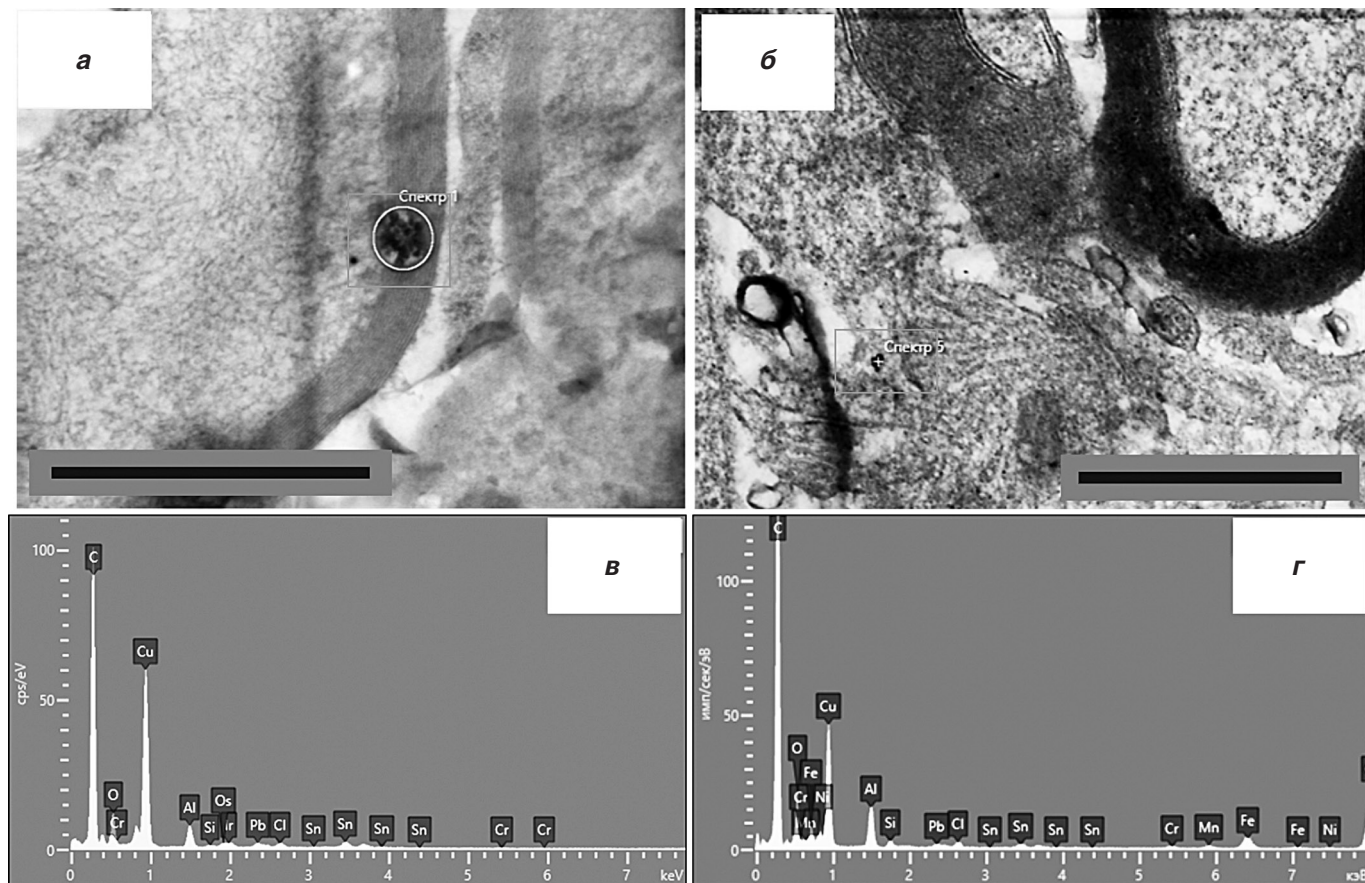
**Электронная микроскопия.** Образцы обонятельных лукович головного мозга из контрольной ( $n = 7$ ) и опытной ( $n = 7$ ) групп животных исследовали методами электронной микроскопии. Образцы тканей полностью извлекали из

<sup>1</sup> Федеральный закон Российской Федерации от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

<sup>2</sup> Федеральный закон от 30.12.2020 г. № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации».

<sup>3</sup> Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 31 октября 2007 г. № 79 «Об утверждении Концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов».

<sup>4</sup> ГОСТ Р 54597–2011/ISO/TR 27628:2007 Воздух рабочей зоны. Ультратонкие аэрозоли, аэрозоли наночастиц и наноструктурированных частиц. Определение характеристик и оценка воздействия при вдыхании.



**Рис. 1.** СТЭМ-изображения тканей обонятельных луковиц контрольной (а) и опытной (б) (с отложениями НЧ  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) групп животных (полоса 1 мкм); в, г – спектры ЭДРС-областей, отмеченных на изображении (а и б соответственно).

**Fig. 1.** STEM images of tissues of olfactory bulbs in the (a) control and (б) exposed (with deposits of  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  NPs) animals (band: 1  $\mu\text{m}$ ); в, г – EDRS spectra of the regions marked on the image (a and б, respectively).

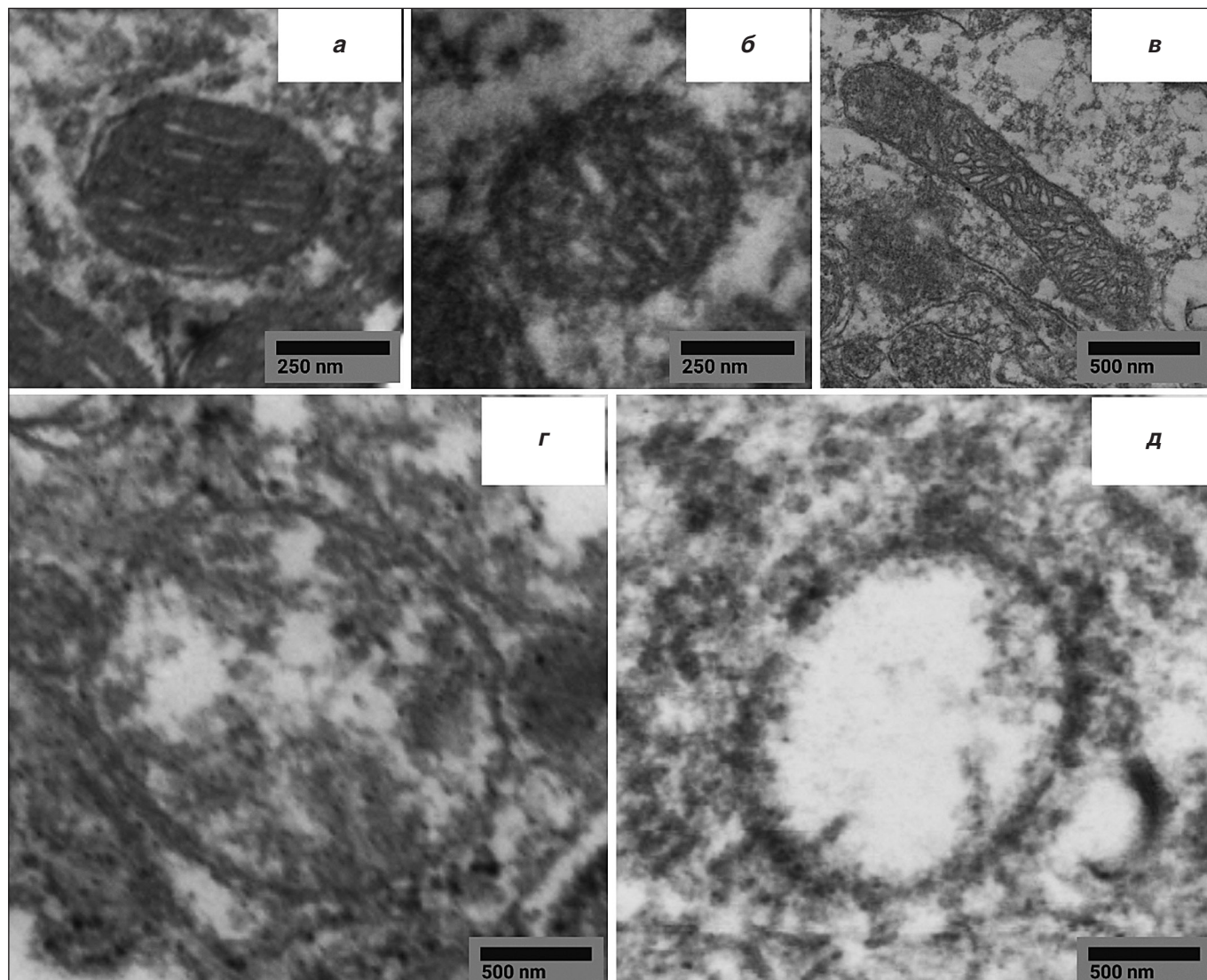
головного мозга, после чего нарежали кубиками размером около 1 мм<sup>3</sup>. Три-пять кубиков ткани фиксировали в отдельных пробирках в 2,5%-м растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4). Образцы постфиксировали раствором четырёхокси осмия и обезжовывали в восходящей последовательности этанола. После чего замещали этанол пропиленоксидом и заливали в смолу Epon812 в трёх экземплярах. Срезы толщиной 70–100 нм вырезали на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Leica Microsystems, Австрия) и помещали на медные сетки. Для каждого образца подготавливали серию срезов по 5–6 штук. Срезы окрашивали растворами уранилацетата и цитрата свинца. Для оценки состояния митохондрий нейронов исследовали только один (наиболее качественный) ультратонкий срез из серии, по 20+ полей зрения, равномерно распределённых по всей поверхности среза. Для идентификации НЧ  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  исследовали каждый срез. Визуализацию срезов проводили при помощи сканирующего электронного микроскопа сверхвысокого разрешения Hitachi REGULUS SU8220 в режиме STEM. Изображения обрабатывали с помощью ImageJ (Национальный институт здравоохранения, США) и GIMP (программа обработки изображений GNU, Gimp 2.8, разработанная GIMP).

Идентификацию НЧ  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  проводили с использованием ЭДРС детектора Ultim<sup>®</sup> Extreme Windowless 100 мм<sup>2</sup> (Oxford Instruments, Великобритания). Спектры ЭДРС анализировали с использованием программного обеспечения AZtec (Oxford Instruments, Великобритания). Применение данного метода позволяет абстрагироваться от авторского суждения о наблюдаемых объектах и заменить их объективными показаниями ЭДРС при анализе в высоком разрешении.

Для идентификации НЧ  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  в общей сложности было проанализировано 210 ультратонких срезов тканей обонятельных луковиц головного мозга у всех животных, в том числе из контрольной группы (выступали в роли отрицательного контроля).

При оценке степени повреждения митохондрий после воздействия НЧ  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  мы выделили пять последовательных стадий трансформации внутренней мембраны, по классификации Mei G. Sun с соавт., и ранжировали 2240 митохондрий в 42 образцах от 14 крыс контрольной и опытной групп (по 7 животных в каждой) [16]. Морфотипирование проводилось двумя независимыми исследователями для снижения субъективизма в определении митохондриального морфотипа, после чего результаты процентного распределения морфотипов усреднялись для каждого типа ткани и животного.

**Статистический анализ.** Статистическую обработку данных СЭМ проводили с помощью программного обеспечения Statistica компании StatSoft. Оценка статистической значимости различий распределений митохондриальных профилей проводили с помощью критерия согласия Пирсона ( $\chi^2$ ). Для анализа с помощью критерия согласия Пирсона предварительно производилось экстраполирование процентных значений распределения митохондрий по морфотипам на 1000 штук. Численное распределение митохондрий контрольной группы принималось как ожидаемое, а опытной группы – как наблюдаемое. Достоверность различий между группами определяли с помощью *U*-критерия Манна – Уитни и *t*-критерия Стьюдента. Разницу между средними значениями считали статистически значимой, если вероятность её случайного появления была ниже 0,05 ( $p \leq 0,05$ ).



**Рис. 2.** Репрезентативные СТЭМ-изображения митохондриальных морфотипов, обнаруженных в нейронах обонятельных луковиц животных опытной и контрольной групп: *a* – нормальный; *б* – нормально-везикулярный; *в* – везикулярный; *г* – везикулярно набухший; *д* – набухший.

**Fig. 2.** Representative STEM images of mitochondrial morphotypes found in olfactory bulb neurons of both study groups: *a* – normal; *б* – normal vesicular; *в* – vesicular; *г* – vesicular swollen; *д* – swollen.

## Результаты

**Идентификация НЧ FeO в тканях головного мозга.** В процессе исследования фонового сигнала Fe в образцах обонятельных луковиц головного мозга как контрольной, так и опытной групп животных не зафиксировано. Не обнаружено также электронно-плотных объектов, содержащих Fe, в образцах контрольной группы (рис. 1).

Вместе с тем в тканях обонятельных луковиц крыс, получивших суспензию НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, были выявлены отложения НЧ, а их состав был подтверждён методом ЭДРС.

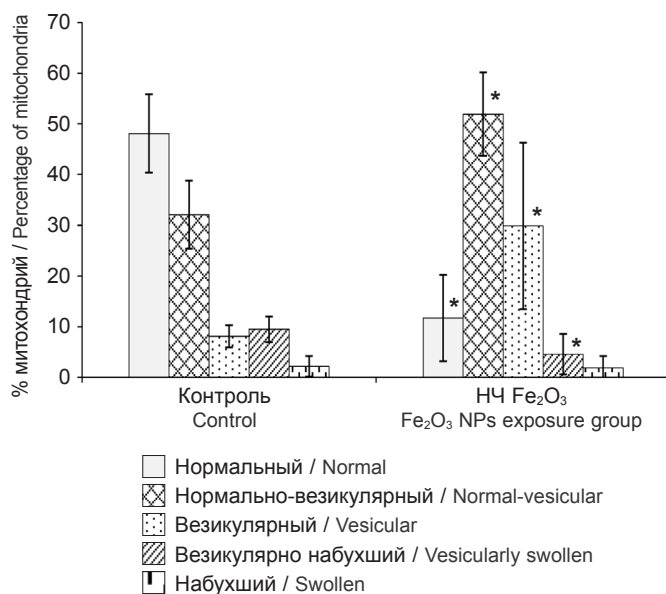
**Исследование цитотоксического действия НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.** Анализ подтвердил наличие всех пяти морфотипов митохондрий в нейронах обонятельных луковиц животных опытной и контрольной групп (рис. 2).

Оценка распределений митохондриальных морфотипов для каждой группы животных выявила изменение митохондриального профиля после введения суспензии НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (рис. 3).

При помощи критерия согласия Пирсона ( $\chi^2$ ) было подтверждено различие в распределении митохондри-

альных морфотипов у крыс, получивших суспензию НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, относительно животных из контрольной группы ( $\chi^2(4; 0,05) = 1010; p \ll 0,0001$ ).

При детализации изменений в распределении митохондрий по морфотипам с помощью попарного сравнения *U*-критерия Манна – Уитни было подтверждено, что в тканях обонятельных луковиц головного мозга животных, подвергшихся воздействию НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, доля митохондрий с нормальным и везикулярно набухшим морфотипами ниже на 36,4 и 4,9% соответственно по сравнению с контрольной группой животных. Вместе с тем доли митохондрий нормально-везикулярного и везикулярного морфотипов выше на 19,8 и 21,8% соответственно в экспонированной группе. В целом распределение митохондрий по морфотипам в группе животных, подвергшихся воздействию НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, было смещено в сторону везикулярного морфотипа с преобладанием нормально-везикулярного относительно контрольной группы животных. Результаты попарного анализа с использованием *t*-критерия Стьюдента были аналогичными.



**Рис. 3.** Митохондриальные профили нейронов обонятельных лукович животных контрольной и опытной групп. Значения даны как среднее арифметическое процента митохондрий в общем числе обнаруженных нейрональных митохондрий; усы показывают стандартное отклонение;

\* – статистически отличается от контрольной группы ( $p < 0,05$ ;  $U$ -критерий Манна – Уитни).

**Fig. 2.** Mitochondrial profiles of olfactory bulb neurons in the control and exposed animals. Values are given as the arithmetic mean of the percentage of mitochondria in the total number of neuronal mitochondria detected; the whiskers show the standard deviation;

\* –  $p < 0.05$  (Mann – Whitney  $U$ -test) compared with the control group.

## Обсуждение

Наличие НЧ  $Fe_2O_3$  в тканях обонятельных лукович крыс после интраназального введения суспензии согласуется с теорией миграции НЧ в мозг по ольфакторному пути, где гематоэнцефалический барьер наиболее проницаем. Ранее другими авторами была отмечена эта особенность для ряда металло-содержащих НЧ – оксидов меди, свинца и цинка [18, 19]. Следует отметить, что НЧ  $Fe_2O_3$  встречались как в субклеточных структурах (например, клеточное ядро и митохондрии), так и в свободном виде в цитоплазме нейронов. Это согласуется с другими исследованиями: НЧ также были обнаружены и во внутриклеточных структурах, включая митохондрии, и в ядре, несмотря на различия НЧ по физическим (форма и размер) и химическим (серебро и золото) характеристикам [20, 21].

Известно, что НЧ оксида железа при попадании в клетки организма стимулируют образование активных форм кислорода (АФК) путём катализа реакций Фентона и Габера – Вейсса, которые рассматриваются как механизм повреждения клеток. В реакции Фентона двухвалентное железо ( $Fe^{2+}$ ) и перекись водорода ( $H_2O_2$ ) могут генерировать ионы трёхвалентного железа ( $Fe^{3+}$ ), гидроксид-анионы ( $OH^-$ ) и гидроксильные радикалы ( $\cdot OH$ ). Окислительный стресс, который возникает из-за действия АФК, приводит к внутриклеточным повреждениям, а также к повреждению ДНК. Так, НЧ оксидов железа могут увеличивать проницаемость и pH лизосом, повреждения эндоплазматического ретикулаума и телец Гольджи [22].

В митохондриях НЧ могут вызывать деполаризацию митохондриальной мембраны и запускать митохондриальное повреждение [23, 24].

В данном исследовании было показано смещение митохондриального профиля в сторону нарушенных морфотипов митохондрий при введении животным НЧ  $Fe_2O_3$ , что говорит о цитотоксическом действии НЧ  $Fe_2O_3$  на нейроны обонятельных лукович ГМ крыс (см. рис. 3). Известно, что метаболизм митохондрий тесно связан с железом, особенно в цепи переноса электронов. Предыдущие исследования показали, что НЧ оксидов железа встраивались в цепь переноса электронов, что влияло на выработку АТФ, мембранный потенциал митохондрий и микрораспределение кальция [23]. Предполагается, что НЧ оксидов железа в митохондриях участвуют в химических реакциях и затем нарушают равновесие реакций с железом, что приводит к деполаризации митохондриальной мембраны и снижению жизнеспособности клеток. Так, Ruan L. и соавт. показали, что накопленные в митохондриях НЧ оксида железа вызывали сильный цитотоксический эффект, в то время как НЧ в лизосомах не вызывали значительной цитотоксичности. Изучив трансформацию наночастиц в митохондриях, авторы обнаружили как увеличение количества краевых дефектов, так и повышенное среднее валентное состояние железа. Эти два изменения привели к переходу железа в химически активную форму [22].

Преобладание нормально-везикулярной стадии, а также увеличение доли везикулярного морфотипа говорит о ранней индукции апоптотических процессов и начале выхода цитохрома. Удельный вес митохондрий набухшего морфотипа ( $< 2,5\%$ ) также свидетельствует о малом количестве времени, прошедшем с момента выхода цитохрома [16, 25, 26]. В то же время снижение доли митохондрий везикулярно нарушенного морфотипа предположительно может быть обусловлено активизацией репаративных процессов, замедляющих апоптотические, но данное утверждение требует дальнейших исследований, в том числе с применением молекулярных методов.

В свете вышеизложенного можно заключить, что НЧ  $Fe_2O_3$  способны проникать в обонятельные луковичи головного мозга крыс при интраназальном введении суспензии даже в низких дозах. Вместе с тем наблюдаемые изменения в митохондриальном профиле позволяют сделать выводы о цитотоксическом действии НЧ  $Fe_2O_3$  на нейроны обонятельных лукович головного мозга.

## Заключение

В данном исследовании методами электронной микроскопии и ЭДРС было показано, что НЧ  $Fe_2O_3$  оказывают токсическое воздействие на крыс при интраназальном введении суспензии в суммарной дозе 0,45 мг на одно животное. В процессе исследования было подтверждено, что НЧ  $Fe_2O_3$  способны преодолевать гематоэнцефалический барьер и проникать в клеточные и субклеточные структуры обонятельных лукович головного мозга и при низких дозах. Также было обнаружено существенное изменение митохондриального профиля нейронов в этих тканях при интраназальном введении суспензии НЧ  $Fe_2O_3$ .

Таким образом, изучение воздействия железосодержащих НЧ на структуру и функции митохондриального аппарата может помочь выявить их потенциальную опасность на субклеточном уровне и дать информацию для разработки мер по защите здоровья населения. Кроме того, исследование митохондриальной дисфункции в контексте болезней могут способствовать разработке стратегий, нацеленных на защиту митохондриального аппарата, для профилактики и лечения токсико-индуцированных патологий.

## Литература

(п.п. 1–16, 18–26 см. References)

17. Кательникова А.Е., Крышень К.Л., Зуева А.А., Макарова М.Н. Интраназальное введение лекарственных средств лабораторным животным. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019; (2): 9. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-02-09> <https://elibrary.ru/xbrmnv>

## References

- Pereira A.C., Gonçalves B.B., Brito R.D.S., Vieira L.G., Lima E.C.O., Rocha T.L. Comparative developmental toxicity of iron oxide nanoparticles and ferric chloride to zebrafish (*Danio rerio*) after static and semi-static exposure. *Chemosphere*. 2020; 254: 126792. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126792>
- Maher B.A., González-Maciél A., Reynoso-Robles R., Torres-Jardón R., Calderón-Garcidueñas L. Iron-rich air pollution nanoparticles: An unrecognized environmental risk factor for myocardial mitochondrial dysfunction and cardiac oxidative stress. *Environ. Res.* 2020; 188: 109816. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109816>
- Christop V.V., Mironov V.A., Prilepskii A.Y., Nikonorova V.G., Vinogradov V.V. Organ-specific toxicity of magnetic iron oxide-based nanoparticles. *Nanotoxicology*. 2021; 15(2): 167–204. <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1842934>
- Khan F.A., Almohazey D., Alomari M., Almoftly S.A. Impact of nanoparticles on neuron biology: current research trends. *Int. J. Nanomedicine*. 2018; 13: 2767–76. <https://doi.org/10.2147/IJN.S165675>
- Karmakar A., Zhang Q., Zhang Y. Neurotoxicity of nanoscale materials. *J. Food Drug Anal.* 2014; 22(1): 147–60. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.012>
- Teleanu D.M., Chircov C., Grumezescu A.M., Teleanu R.I. Neurotoxicity of nanomaterials: An up-to-date overview. *Nanomaterials (Basel)*. 2019; 9(1): 96. <https://doi.org/10.3390/nano9010096>
- Win-Shwe T.T., Fujimaki H. Nanoparticles and neurotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 2011; 12(9): 6267–80. <https://doi.org/10.3390/ijms12096267>
- Borisova T. Nervous system injury in response to contact with environmental, engineered and planetary micro- and nano-sized particles. *Front. Physiol.* 2018; 9: 728. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00728>
- Boyes W.K., van Thriel C. Neurotoxicology of nanomaterials. *Chem. Res. Toxicol.* 2020; 33(5): 1121–44. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00050>
- Dhakshinamoorthy V., Manickam V., Perumal E. Neurobehavioural toxicity of iron oxide nanoparticles in mice. *Neurotox. Res.* 2017; 32(2): 187–203. <https://doi.org/10.1007/s12640-017-9721-1>
- Wu J., Ding T., Sun J. Neurotoxic potential of iron oxide nanoparticles in the rat brain striatum and hippocampus. *Neurotoxicology*. 2013; 34: 243–53. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.09.006>
- Brand M.D., Nicholls D.G. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochem J.* 2011; 435(2): 297–312. <https://doi.org/10.1042/BJ20110162>
- Meyer J.N., Leung M.C., Rooney J.P., Sandoel A., Hengartner M.O., Kisby G.E., et al. Mitochondria as a target of environmental toxicants. *Toxicol. Sci.* 2013; 134(1): 1–17. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kft102>
- Joza N., Susin S.A., Daugas E., Stanford W.L., Cho S.K., Li C.Y., et al. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*. 2001; 410(6828): 549–54. <https://doi.org/10.1038/35069004>
- Mayer B., Oberbauer R. Mitochondrial regulation of apoptosis. *Physiology*. 2003; 18(3): 89–94. <https://doi.org/10.1152/nips.01433.2002>
- Sun M.G., Williams J., Munoz-Pinedo C., Perkins G.A., Brown J.M., Ellisman M.H., et al. Correlated three-dimensional light and electron microscopy reveals transformation of mitochondria during apoptosis. *Nat. Cell Biol.* 2007; 9(9): 1057–65. <https://doi.org/10.1038/ncb1630>
- Katel'nikova A.E., Kryshen' K.L., Zueva A.A., Makarova M.N. Intranasal introduction to laboratory animals. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy*. 2019; (2): 9. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-02-09> <https://elibrary.ru/xbrmnv> (in Russian)
- Dumková J., Smutná T., Vrlíková L., Le Coustumer P., Večeřa Z., Dočekal B., et al. Sub-chronic inhalation of lead oxide nanoparticles revealed their broad distribution and tissue-specific subcellular localization in target organs. *Part. Fibre. Toxicol.* 2017; 14(1): 55. <https://doi.org/10.1186/s12989-017-0236-y>
- Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., et al. *In vivo* toxicity of copper oxide, lead oxide and zinc oxide nanoparticles acting in different combinations and its attenuation with a complex of innocuous bio-protectors. *Toxicology*. 2017; 380: 72–93. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.02.007>
- Cramer S., Tacke S., Bornhorst J., Klingauf J., Schwerdtle T., Galla H.J. The influence of silver nanoparticles on the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barrier *in vitro*. *J. Nanomed. Nanotechnol.* 2014; 5: 1000225. <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000225>
- Panzarini E., Mariano S., Carata E., Mura F., Rossi M., Dini L. Intracellular transport of silver and gold nanoparticles and biological responses: an update. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(5): 1305. <https://doi.org/10.3390/ijms19051305>
- Ruan L., Li H., Zhang J., Zhou M., Huang H., Dong J., et al. Chemical transformation and cytotoxicity of iron oxide nanoparticles (IONPs) accumulated in mitochondria. *Talanta*. 2023; 251: 123770. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123770>
- Rivas-García L., Quiles J.L., Varela-López A., Giampieri F., Battino M., Bettmer J., et al. Ultra-small iron nanoparticles target mitochondria inducing autophagy, acting on mitochondrial DNA and reducing respiration. *Pharmaceutics*. 2021; 13(1): 90. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010090>
- Khan M.I., Mohammad A., Patil G., Naqvi S.A., Chauhan L.K., Ahmad I. Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelial cancer cells by iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*. 2012; 33(5): 1477–88. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.10.080>
- Shiozaki E.N., Shi Y. Caspases, IAPs and Smac/DIABLO: mechanisms from structural biology. *Trends Biochem. Sci.* 2004; 29(9): 486–94. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2004.07.003>
- Perkins G.A., Sun M.G., Frey T.G. Chapter 2 correlated light and electron microscopy/electron tomography of mitochondria *in situ*. *Methods Enzymol.* 2009; 456: 29–52. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(08\)04402-9](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(08)04402-9)