УДК [546.815-168:612.79] : 616-092 : 57.084

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ У ВНУТРІШНІХ ОРГАНАХ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ВПЛИВІ НА ЇХ НЕУШКОДЖЕНУ ШКІРУ МІКРО- І НАНОЧАСТИНОК НЕОРГАНІЧНИХ СПОЛУК СВИНЦЮ

С.П. Луговський , М.М. Діденко, Н.А. Мельник
ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН України», м. Київ, Україна

РЕЗЮМЕ. Вступ. *Нині все більше стрімкого розвитку набуває галузь наноматеріалів і нанотехнологій. Наночастинки металів широко впроваджуються у різні сфери господарської діяльності, що створює потенційний ризик для здоров'я працюючих та довкілля. На особливу увагу заслуговують наночастинки свинцю, оскільки можливість їх утворення у виробничому процесі є досить великою, а характер впливу на організм до цього часу майже не вивчений.*
Мета дослідження. *Морфо-функціональна оцінка внутрішніх органів щурів при нанесенні на їх неушкоджену шкіру мікро- і наночастинок неорганічних сполук свинцю.*
Матеріали і методи. *Проведено хронічний експеримент на 24 щурах-самцях Вістар, які були розділені на 4 групи. Щурам II, III, IV груп на попередньо вистрижену поверхню шкіри спини, площею 2 см^2, щодня (5 днів на тиждень) протягом 3 місяців на 4 години наносили 1 мл колоїдів наночастинок PbS з розміром 12,5 нм і 100 нм та водний розчин тригідрату ацетату свинцю, I група – контрольні (інтактні щури). Проводили морфологічні дослідження внутрішніх органів (міокард, печінка, нирки) з використанням загальноприйнятих гістологічних методик.*
Результати дослідження. *Встановлено, що тривале нанесення на неушкоджену шкіру щурів наночастинок PbS розміром 12,5 нм і 100 нм на відміну від водного розчину тригідрата ацетату свинцю, середній розмір частинок якого дорівнює 700 нм, супроводжується резорбцією наночастинок крізь неушкоджену шкіру, що забезпечує процес їх всмоктування в організм і надходження до органів-мішеней, де наночастинки здатні проявляти ефект токсичної дії.*
Висновки. *Наночастинки PbS різних розмірів за тривалого впливу на неушкоджену шкіру на відміну від частинок мікрометрового діапазону викликають широкий спектр морфологічних змін, які засвідчують їхню кардіовазотоксичну, гепатотоксичну та нефротоксичну дію.*
Ключові слова: *наночастинки свинцю, шкіра, внутрішні органи.*

Вступ. Свинець є одним з найдавніших і найбільш ґрунтовно вивчених серед екологічних та професійних токсикантів. Цей метал має достатньо великі обсяги виробництва та широку сферу застосування, що зумовлює його надходження до різних об'єктів навколишнього середовища [1-3].

На особливу увагу заслуговують наночастинки (НЧ) свинцю, оскільки можливість їх утворення у виробничому процесі є досить великою, а це збільшує ризик контакту з ними працюючих при виробництві НЧ, а також при їх застосуванні [4].

Джерелом надходження у повітря ультрадисперсних частинок свинцю розміром менше 100 нм можуть бути виробництва, де є умови для утворення аерозолю конденсації, зокрема при виплавці свинцю, зварюванні та різанні конструкцій, рекуперації свинцевих акумуляторів [5].

Небезпечність свинцю у вигляді наночастинок обумовлена їхніми фізико-хімічними властивостями, такими як: малий розмір, велика питома площа поверхні. Це значно підвищує реакційну здатність та біологічну активність свинцю, відкриваючи перспективи для більш широкого застосування. Одночасно створюється потенційна небезпека для довкілля та людини [5]. Одним з найбільш небезпечних проявів загальнотоксичної дії НЧ є їхня транслокація у внутрішньоклітинне середовище і розподіл у внутрішніх органах. Детальне вивчення впливу НЧ свинцю на функціонування внутрішніх органів і систем є важливою токсиколого-гігієнічною проблемою. Вирішення цих завдань можливе лише на підставі нових фундаментальних знань щодо закономірностей та особливостей шляхів надходження НЧ до живого організму, їх розподілення в органах (тканинах, клітинах), депонування, метаболічних перетворень та екскреції.

Вважається, що основними шляхами надходження НЧ до людського організму є інгаляційний (з повітрям), пероральний (з їжею та водою) і транскутанний (через шкіру). Встановлено, що НЧ здатні долати біологічні бар'єри (гемато-енцефалітичний, плацентарний), проникати через неушкоджену шкіру [6].

У зв'язку з чим, дослідження особливостей морфо-функціонального стану внутрішніх органів при впливі НЧ свинцю на неушкоджену шкіру є вельми актуальними, оскільки вони дають можливість поглибити розуміння механізмів резорбції НЧ крізь шкіру, а також механізмів токсичної дії металу на організм.

Мета дослідження – морфо-функціональна оцінка внутрішніх органів щурів при нанесенні на їх неушкоджену шкіру мікро і наночастинок неорганічних сполук свинцю.

Матеріали та методи дослідження. Експерименти проведені на 24 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар, масою 150-180 г, які утримувались у стандартних умовах віварію при середній тривалості світлового періоду 11-12 год., температурі повітря 21–24°С та його відносній вологості 40-60% на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до водогінної води, що відстоювалася не менше 24 год. у відповідності до рекомендацій [7]. Всі маніпуляції зі щурами проводили з дотриманням основних вимог європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментах для наукових цілей [8].

Щури були розділені на 4 групи (3-и експериментальні, 1-а контрольна), по 6 тварин у кожній групі. На експериментальних щурах відтворювали модель тривалої дії на неушкоджену шкіру наночастинок (НЧ) свинцю. Для цього в експерименті були використані колоїди НЧ сульфіду свинцю (PbS; м.м. 239,3 г/моль) з різним розміром НЧ і водний розчин тригідрату ацетату свинцю (ТГ АС; $Pb(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O$; м.м. 325,29 г/моль; розчинність у воді при 25°С – 55,2 г/л).

Колоїди НЧ PbS отримували методом хімічного синтезу *(Інститут фізичної хімії імені Л.В. Пісаржевського НАН України)* і стабілізували желатином у кінцевій концентрації 0,5% і 1,0%, що дозволяло на виході отримати НЧ більшого та меншого розмірів. Колоїди НЧ PbS і розчин ТГ АС («ХимЛаборРеактив») стандартизували за масовою часткою хімічної речовини, що дорівнювала 0,01 ммоль/л.

Для визначення фізико-хімічних характеристик частинок PbS і ТГ АС (форма і розмір), необхідних для визначення показників середнього об'єму та середньої площі питомої поверхні частинок, використовували метод растрової електронної мікроскопії (мікроскоп *«Tescan MIRA3»*, фірми *«Tesla»* з системою локального елементного енерго-дисперсійного мікроаналізу *«Oxford Advanced Aztec Energy* (IE350) / *X-max 80»*) та метод динамічного розсіювання світла (лазерний спектрометр *«DinaSizer»* фірми *«Fritsch»*, Німеччина).

Для відтворення в токсикологічному експерименті моделі хронічної дії на неушкоджену шкіру НЧ PbS і ТГ АС попередньо на спині щурів ножицями вистригали вовну, звільняючи ділянку шкіри площею 2 $см^2$. Для експериментальних досліджень використовували робочі розчини колоїдів PbS і водного розчину ТГ АС, які готували ex tempore, шляхом десятикратного розведення маточних розчинів деіонізованою водою. За таких умов концентрація хімічних речовин, що наносилася на шкіру дорівнювала 0,001 моль/л. Робочі розчини НЧ PbS і ТГ АС наносили щодня (5 днів на тиждень), упродовж 3-х місяців. Для цього щурів поміщали до спеціальної пластикової камери для нашкірних аплікацій, наносили піпеткою на підготовлену поверхню шкіри 1,0 мл робочого розчину і залишали тварин у камері на 4 год. для експозиції хімічних речовин. Після експозиції хімічні речовини змивали з поверхні шкіри деіонізованою водою.

З експерименту тварин виводили через три місяці шляхом декапітації після попередньої наркотизації. Наркотизацію щурів проводили шляхом введення їм в черевну порожнину 2,5% розчину 2,2,2-трибромметанолу (*«Aldrich»*) в 2-метилбутанолі (робоче розведення 1:50 у PBS) із розрахунку 300 мг/кг. Після декапітації та знекровлення у тварин брали печінку, нирки та серце, з яких вирізали шматочки товщиною 0,5 см і площею не більше за 1 $см^2$. Вирізані шматочки занурювали на 72 год у 10% розчин нейтрального формаліну або у фіксатор Лілі. Окремі шматочки печінки та нирок перед фіксацією у формаліні витримували впродовж 6-12 год у водному 20% розчині сульфату кадмію ($CdSO_4$) [9]. Після фіксації шматочки органів промивали у воді, зневоднювали в серії етанолів, просвітляли у ксилолі та ущільнювали в парафін за стандартною методикою [10]. Парафінові зрізи, товщиною 5–7 мкм готували за допомогою мікротому, монтували їх на предметні скельця (не менше 3-х зрізів) та фарбували гематоксиліном і еозином, а також за методом Мелорі-Слінченко [10]. Для виявлення катаболічного феритину, що є одним з маркерів токсичного ефекту за дії свинцю, на парафінових зрізах печінки та нирок проводили гістохімічну реакцію Перлса відповідно до рекомендацій [9].

Гістологічні дослідження виконували за допомогою світлового мікроскопу *Olimpus BX 54* з цифровою фотокамерою *Olimpus C-5050 ZOOM* і програмним забезпеченням *Olimpus DP-Soft.* При мікроскопії визначали характер і частоту морфологічних змін. Для цього відповідно до рекомендацій Г.Г.Автанділова [11], використовували не менше 3- х гістологічних препаратів (9 зрізів кожного органа від 1-го щура), в кожному з яких досліджували не менше 5 полів зору при використанні об'єктива мікроскопа зі збільшенням х 10, і відповідно 10 полів зору при використанні об'єктива мікроскопа зі збільшенням х 40. Результати оцінки морфологічних змін представляли у відносних одиницях (%), що визначали їхню частоту в загальному обсязі дослідженого матеріалу. Для статистичної обробки даних використовували непараметричний метод кутового перетворення φ^* – Фішера [12]. Суть методу полягає в перетворенні показника частоти морфологічних ознак (Р) у величину центрального кута φ, що вимірюється в радіанах і визначається за формулою:

$$\varphi = 2*\arcsin\sqrt{P} \qquad (1)$$

де φ - величини центрального кута (у радіанах),

P – значення частоти виявленої морфологічної ознаки (%) з подальшим порівнянням величини розрахованого емпіричного значення $\varphi^*_{емп}$ з критичним значенням $\varphi_{*кр}$. Підрахунок емпіричного значення критерію φ*емп проводили за формулою:

$$\boldsymbol{\varphi}^*_{\textbf{кр}} = (\varphi_1 - \varphi_2)\sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}. \qquad (2)$$

де φ_1 – кут, що відповідає більшій відсотковій частці,

φ_2 – кут, що відповідає меншій відсотковій частці,

n_1, n_2 – кількість досліджень у вибірках (групах)

Отримані емпіричні значення критерію $\varphi^*_{емп}$ порівнювали з його критичними значеннями $\varphi^*_{кр}$ (табличними) [12, с. 332]. На основі порівняння емпіричних і критичних значень φ^* робили висновок про відповідність однієї з прийнятих статистичних гіпотез.

Критичними значеннями $\varphi^*_{кр}$, що відповідають прийнятим у практиці морфологічних досліджень рівням статистичної значимості, були:

$$\boldsymbol{\varphi}^*_{\textbf{кр}} = \begin{cases} 1{,}64; (p \le 0{,}05) \\ 2{,}31; (p \le 0{,}01) \end{cases} \qquad (3)$$

Результати та їх обговорення. Результати проведених електронно-мікроскопічних досліджень показали, що майже всі НЧ PbS, отримані методом хімічного синтезу, мали форму подовженого еліпса (рис. 1 а, б). При цьому розмір його довшої вісі у майже 80% НЧ PbS, стабілізованих 1% розчином желатину, коливався у межах від 7 нм до 16 нм (середнє значення 12,87±0,57 нм), а короткої вісі – у межах від 5,5 нм до 7,5 нм (середнє значення 6,5±0,23 нм). Разом із цим, розмір довшої вісі 65% НЧ PbS, стабілізованих 0,5% розчином желатину, коливався в межах від 75 нм до 130 нм (середнє значення 106,0±6,0 нм), а короткої відповідно у межах від 19 нм до 31 нм (середнє значення 24,0±5,5 нм). При електронно-мікроскопічному дослідженні частинок ТГ АС було встановлено, що вони мають кристалічну будову з моноклінною сингонією і форму у вигляді шестигранної сплощеної призми, висотою близько 20 нм і середньою довжиною між сторонами шестигранної основи близько 700 нм (рис. 1 в).

За допомогою методу динамічного розсіювання світла встановлено, що близько 72,5% НЧ PbS, стабілізованих 1% розчи-

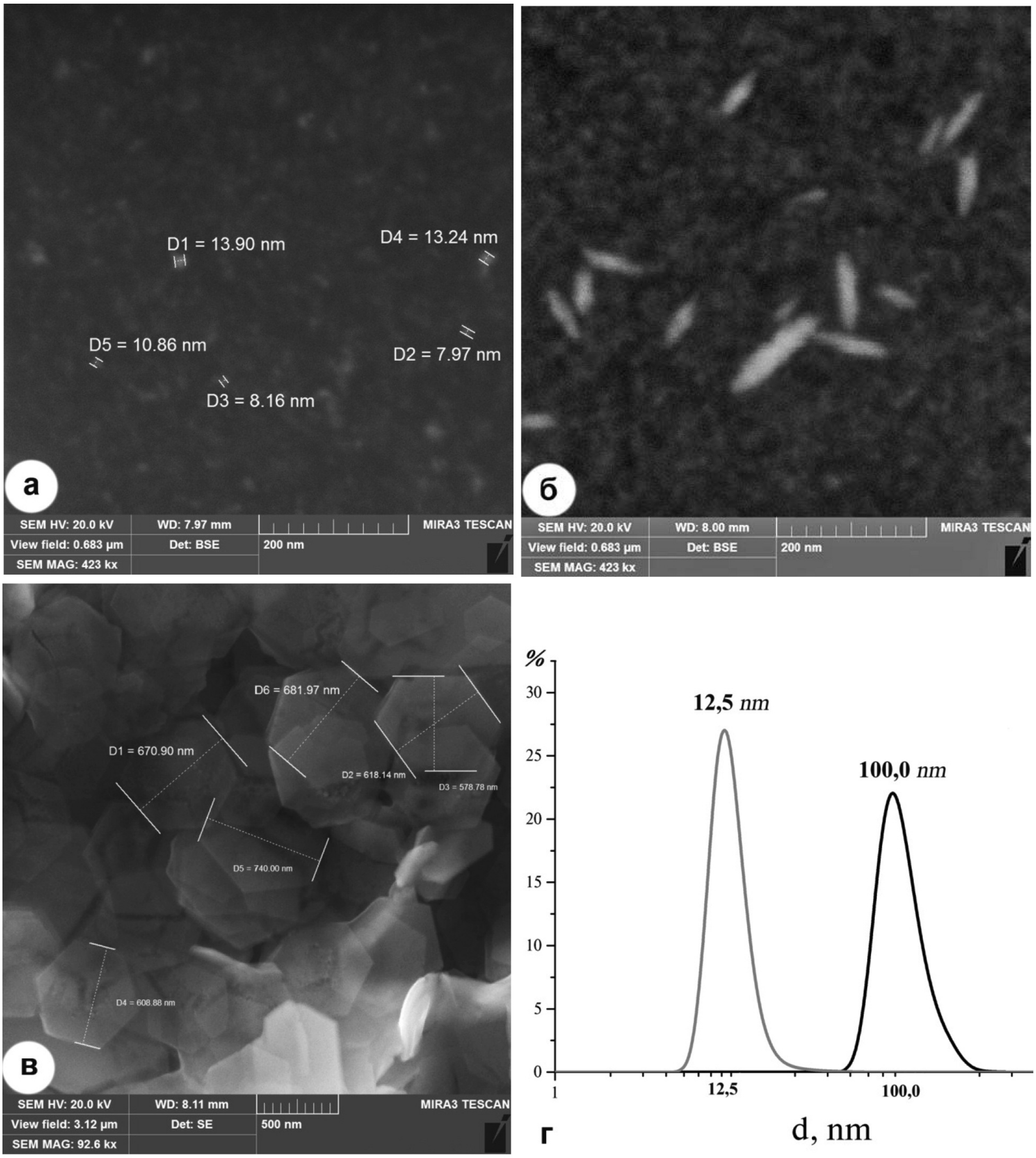

Рис. 1. Електронномікроскопічна характеристика НЧ PbS (а, б) і кристалів тригідрату АС (в) за результатами растрової електронної мікроскопії та середній розмір НЧ PbS за даними методу динамічного розсіювання світла.

ном желатина, мали розміри, які коливалися у межах від 11 нм до 15 нм, а близько 68,5% НЧ PbS, стабілізованих 0,5% розчином желатину, – розміри, що коливалися в межах від 76 нм до 135 нм. За даними цих досліджень визначено середній розмір НЧ PbS, стабілізованих 1% розчином желатину, який дорівнює 12,5 нм, а НЧ PbS, стабілізованих 0,5% розчином желатину – 100 нм, відповідно (рис. 1г). При визначенні середнього розміру частинок ТГ АС цей показник дорівнював значення 700 нм.

За даними літератури, визначення розмірів і форми НЧ важких металів є одним з найважливіших завдань на етапі проведення експериментальних досліджень по вивченню ефектів їхньої біологічної та токсичної дії [13]. При цьому, наявність достовірної інформації щодо розміру та форми НЧ разом із даними про концентрацію хімічної речовини дозволяє розрахунковим методом отримати значення показників середнього об'єму НЧ, їх середньої площі питомої поверхні, а також концентрації НЧ у колоїдах, що набуває провідного значення для оцінки ефектів дії НЧ у дослідах *in vitro* та *in vivo* [13]. Впровадження цього методичного підходу на початковому етапі проведення експериментальних токсикологічних досліджень з вивчення ефектів токсичної дії різних за розміром НЧ PbS за їхньої тривалій дії на неушкоджену шкіру щурів дозволило отримати найбільш важливі для токсикологічної оцінки небезпеки різних за розміром НЧ PbS фізико-хімічні характеристики, що істотно відрізняються від частинок ТГ АС, водний розчин якого було використано в експерименті в якості об'єкта порівняння.

Основні фізико-хімічні характеристики частинок PbS і ТГ АС наведено в таблиці (табл. 1). З цієї таблиці видно, що середній об'єм однієї НЧ PbS розміром 100 нм на 3 порядки перевищує об'єм НЧ PbS розміром 12,5 нм, але він на 2 порядки менше за середній об'єм однієї частинки ТГ АС. Необхідно також відзначити, що значення показника середньої площі питомої поверхні НЧ PbS розміром 12,5 нм на 2 порядки менше за аналогічний показник НЧ PbS розміром 100 нм і на 3 порядки за показник, що був розрахований для частинок ТГ АС (табл. 1).

На підставі одержаних даних встановлено, що при нанесенні на неушкоджену шкіру щурів 1 мл колоїдів PbS з концентрацією хімічної речовини 0,001 моль/л, концентрація НЧ PbS розміром 12,5 нм на 1 см^2 площі поверхні шкіри дорівнювала $0{,}61*10^{13}$ частинок/см^2, а НЧ PbS розміром 100 нм – $1{,}2*10^{10}$ частинок/см^2. Разом із цим концентрація частинок ТГ АС розміром 700 нм при аналогічній концентрації хімічної речовини (0,001 ммоль/л) дорівнювала $10{,}13*10^8$ частинок/см^2. За таких умов середня площа питомої поверхні, нанесених на неушкоджену шкіру щурів НЧ PbS, розміром 12,5 нм становила $1{,}28*10^{-3}$ м^2, НЧ PbS, розміром 100 нм – $1{,}61*10^{-4}$ м^2, а частинок АС – $4{,}69*10^{-6}$ м^2 відповідно.

Результати мікроскопічних досліджень міокарда, печінки та нирок щурів, які зазнавали тривалої дії на неушкоджену шкіру ТГ АС, показали, що гістологічна структура органів істотно не відрізнялася від контролю. Разом із цим, за дії НЧ PbS розміром 12,5 нм у міокарді піддослідних щурів часто виявляли розширення просвітів і повнокрів'я дрібних інтрамуральних артерій, вен і капілярів, що спричиняло

Таблиця 1

Фізико-хімічні характеристики частинок PbS і ТГ АС, використані в експерименті

Хімічна речовина		**Частинки**			
Концентрація, моль/л (г/л)	*ρ, г/л*	*Середній розмір, нм*	*Середній об'єм, * м^3*	*Середня площа питомої поверхні, * м^2*	*Концентрація, частинок /л*
PbS 0,01 (0,239)	7,6	12,5	$2{,}56*10^{-25}$	$2{,}1*10^{-16}$	$1{,}22*10^{17}$
		100	$1{,}31*10^{-22}$	$1{,}34*10^{-14}$	$2{,}39*10^{14}$
ТГ АС 0,01 (0,379)	2,25	100	$1{,}66*10^{-20}$	$9{,}27*10^{-13}$	$10{,}13*10^{12}$

Примітка. * – розрахунки проведені за загальноприйнятим у геометрії методом для еліпса та шестигранної призми.

набряк інтерстиціальної сполучної тканини (рис. 2а). Такі зміни свідчать про порушення в системі мікроциркуляції міокарда, які визначали розвиток дистрофії кардіоміоцитів у вигляді набряку їхньої саркоплазми, а також фрагментації та лізису міофібрил (рис. 2б).

Слід відзначити, що на фоні дистрофічних змін у міокарді часто мав місце розвиток компенсаторно-пристосувальних реакцій у вигляді компенсаторних перебудов, які були спрямовані на підтримку тканинного гомеостазу та проявлялися гіпертрофією кардіоміоцитів і/або їх ядер. У таких випадках у кардіоміоцитах при збільшенні розмірів ядра часто спостерігали виражену звивистість контуру ядерної мембрани, що забезпечувало збільшення площі контакту ядра і цитоплазми, а також обміну між ними [14].

За дії на неушкоджену шкіру щурів НЧ PbS розміром 100 нм у міокарді, так само як і при дії НЧ меншого розміру, виявляли набряк інтерстиціальної сполучної тканини, який супроводжувався набуханням і розшаруванням колагенових волокон. При цьому, порівняно з дією НЧ PbS меншого розміру, в інтимі артерій і вен дрібного калібру (діаметром до 50 мкм) виявляли дрібні вогнища підендотеліального набряку, що зумовлювало нехарактерну для даного типу клітин перпендикулярну до базальної мембрани орієнтацію ядер цих клітин (рис. 2в). На такому фоні в крово-

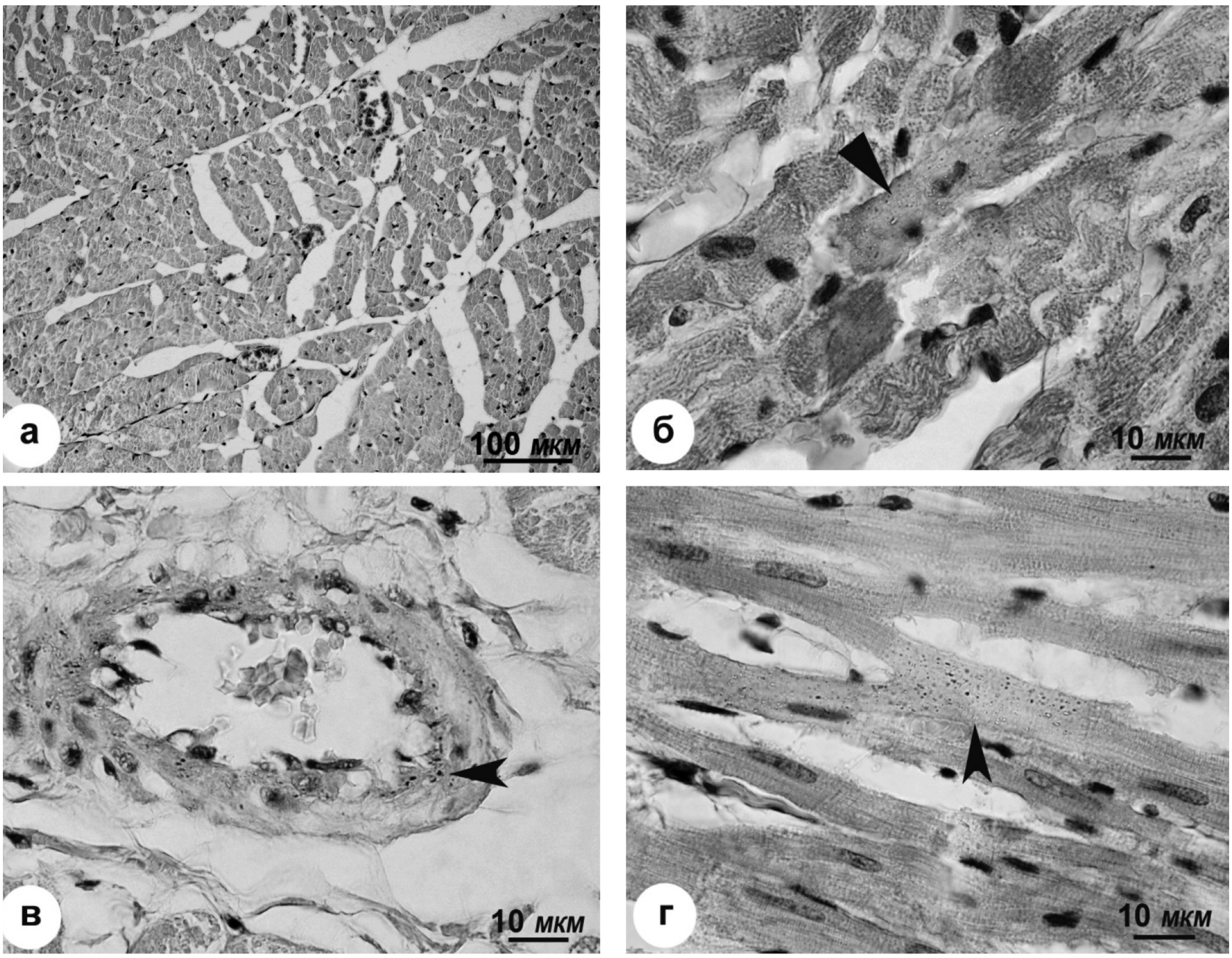

Рис. 2. Гістологічні зміни міокарда щурів за дії НЧ PbS розміром 12,5 нм (а, б) і 100 нм (в, г):
а) – розширення просвітів і повнокрів'я капілярів з розвитком інтерстиціального набряку;
б) – дистрофічні зміни кардіоміоцитів у вигляді набряку саркоплазми та лізису міофібрил (►);
в) – периваскулярний набряк, дрібні вогнища підендотеліального набряку і дистрофія ендотеліоцитів з відкладенням у їх цитоплазмі дрібних кристалоподібних включень (◄); г) – дрібні кристалоподібні включення в саркоплазмі кардіоміоцитів (▲). Гематоксилін і еозин.

носних судинах часто відмічали розвиток дистрофії судинного ендотелію у вигляді набряку цитоплазми, базофілії ядра, нерідко з ознаками їх гетерохроматизації, а також накопичення в клітинах дрібних кристалоподібних включень, здатних до базофілії (рис. 2в).

Також у міокарді при цьому часто виявляли дистрофічні зміни кардіоміоцитів, в яких разом із набряком саркоплазми, фрагментацією та лізисом міофібрил, спостерігали накопичення дрібних кристалоподібних цитоплазматичних включень, здатних до базофілії (рис. 2г).

Результати аналізу частоти виявлених змін у міокарді піддослідних щурів показали, що тривалий вплив на неушкоджену шкіру тварин НЧ PbS розміром 100 нм характеризувався статистично значимим збільшенням частоти набрякових змін інтерстиціальної сполучної тканини, дистрофії судинного ендотелію, а також дистрофії кардіоміоцитів, порівняно з дією НЧ PbS розміром 12,5 нм ($p<0,05$; табл. 2). При цьому частота морфологічних змін, які характеризують розвиток адаптаційно-пристосувальних реакцій у міокарді за дії НЧ PbS розміром 100 нм, не виявляла статистично значимих відмінностей, порівняно з дією НЧ PbS розміром 12,5 нм ($p>0,05$; табл. 2).

При гістологічному дослідженні печінки щурів, які зазнавали тривалої дії на неушкоджену шкіру різних за розміром НЧ PbS, у них на відміну від контрольних щурів та тварин, які зазнавали дії ТГ АС, часто виявляли розширення та повнокрів'я центральних вен і синусоїдних капілярів, що супроводжувалося гіперплазією та гіпертрофією зірчастих ретикулоендотеліоцитів (ЗРЕ, клітин Купфера), у цитоплазмі яких відзначали накопичення дрібних кристалоподібних включень (рис. 3 а, б). Разом із цим, на відміну від впливу ТГ АС, дії НЧ PbS розміром 12,5 нм супроводжувалася набряком цитоплазми та ядер гепатоцитів 3-ї зони печінкових ацинусів, а нерідко – розвитком зернистої дистрофії цитоплазми. На такому фоні в паренхімі органа піддослідних щурів часто виявляли дрібні вогнища лімфомакрофагальної інфільтрації, які за даними літератури, зазвичай формуються в місцях некрозу гепатоцитів [15]. Дистрофічні та некротичні зміни гепатоцитів супроводжувалися розвитком у паренхімі органа компенсаторно-пристосувальних перебудов, які визначалися за збільшенням кількості гепатоцитів з явними ознаками гіпертрофії цитоплазми і ядра, а також збільшенням кількості двоядерних гепатоцитів. Це кореспондується з даними літератури, які вказують на те, що гіпертрофія ядер гепатоцитів і збільшення кількості двоядерних гепатоцитів є одним з морфологічних проявів фізіологічної регенерації органа [16,17,18].

При гістологічному дослідженні печінки щурів, які зазнавали тривалої дії НЧ PbS розміром 100 нм, морфологічні зміни в органі були такими ж, як і за дії НЧ меншого розміру. Також були встановлені відмінності в дії різних за розміром НЧ PbS. Так, дистрофічні зміни гепатоцитів при дії більших за розміром НЧ PbS, на відміну від НЧ меншого розміру, часто проявлялися набуханням цитоплазми гепатоцитів III-ї зони печінкових ацинусів з відкладенням у ній дрібних кристалоподібних включень, які нерідко набували базофільного забарвлення (рис. 3в). За таких умов у розширених просвітах синусоїдних капілярів часто виявляли апоптозні тільця, представлені фрагментами ущільненої цитоплазми та гіперхромного ядра (рис. 3г). Вогнища запальної інфільтрації при цьому виявлялися рідко.

Результати проведеного аналізу показали, що тривала дія на неушкоджену шкіру щурів НЧ PbS розміром 100 нм характеризувалася значимим ($p<0,05$) у порівнянні з дією менших за розміром НЧ PbS збільшенням частоти дистрофії гепатоцитів при тому, що значимих відмінностей у розвитку венозного повнокрів'я органа виявлено не було ($p>0,05$; табл. 2). Разом із цим частота запальних змін у паренхімі органа, що асоціюється з некрозом гепатоцитів за дії НЧ PbS розміром 100 нм, була значимо менше, ніж за дії менших за розміром НЧ PbS ($p<0,05$; табл. 2). Разом із цим дія більших за розміром НЧ характеризувалася значимим збільшенням частоти апоптозу гепатоцитів, порівняно з дією менших за розміром НЧ PbS ($p<0,05$; табл. 2).

У відповідь на ушкодження в паренхімі печінки щурів, які зазнавали дії НЧ PbS розміром 100 нм, часто виявляли компенсаторно-пристосувальні перебудови у виг-

Таблиця 2

Частота (φ) морфологічних змін за хронічної дії на неушкоджену шкіру щурів НЧ PbS розміром 12,5 нм і 100 нм, радіан

Морфологічні зміни	Розмір НЧ PbS		$\varphi^*_{емпір}$
	12,5 нм	100 нм	
Міокард			
Інтерстиціальний набряк	1,085	1,523	2,041*
Дистрофія ендотелію кровоносних судин	1,855	2,434	1,817*
Дистрофія кардіоміоцитів	1,141	1,638	3,846#
Гіпертрофія кардіоміоцитів або їхніх ядер	0,841	0,906	0,505
Печінка			
Венозне повнокрів'я паренхіми	1,186	1,420	1,479
Гіперплазія та гіпертрофія ЗРЕ	1,222	1,431	1,324
Дистрофія гепатоцитів, у тому числі дрібні кристалоподібні цитоплазматичні включення	1,167	1,480	2,083*
Некроз гепатоцитів (вогнищева лімфомакрофагальна інфільтрація та макрофагальні гранульоми)	0,874	0,541	1,948*
Апоптоз гепатоцитів (апоптозні тільця в просвітах розширених синусоїдних капілярів)	0,553	0,963	2,394#
Гіпертрофія гепатоцитів і їхніх ядер; збільшення кількості двоядерних гепатоцитів	1,622	1,395	1,428
Нирки			
Повнокрів'я інтратубулярних капілярів; розширення капсул ниркових тілець	1,313	1,224	0,648
Дистрофія ендотелію клубочкових капілярів, у тому числі з наявністю в їх цитоплазмі дрібних кристалоподібних включень	1,482	1,318	1,092
Розширення просвітів проксимальних канальців з наявністю в них ацидофільних білкових мас	1,664	1,471	1,205
Дистрофія епітелію проксимальних канальців, у тому числі білкова з наявністю дрібних кристалоподібних включень та включень феритину	1,471	1,621	1,163

Примітка. Відмінності статистично значимі: * – $p<0,05$; # – $p<0,01$

ляді гіпертрофії гепатоцитів або їхніх ядер, а також збільшення кількості двоядерних гепатоцитів. За даними аналізу частота таких змін при дії менших і більших за розміром НЧ PbS значимо не відрізнялася між собою (p>0,05; табл. 2).

У нирках щурів за тривалій дії на неушкоджену шкіру НЧ PbS розміром 12,5 нм, на відміну від контролю та дії ТГ АС, виявляли розширення та повнокрів'я перитубулярних капілярів, просвітів капсул ниркових тілець, а також капілярів ниркових клубочків, переважно юкстамедулярних нефронів (рис. 4 б), що вказує на їх більшу функціональну активність, завдяки чому вони в першу чергу реагують на зміни внутрішнього середовища. При цьому ендотелій клубочкових капілярів часто зазнавав дистрофічних змін у вигляді набряку їх цитоплазми і ядра. За таких умов в епітелії проксимальних канальців часто відмічали розвиток білкової дистрофії. Разом із цим у розширених просвітах дистальних канальців і збиральних трубочок часто виявлялися пухкі та щільні ацидофільні білкові маси (рис. 4 б), які вказували на порушення в нирках процесів реабсорбції білка. За дії НЧ PbS розміром 100 нм морфологічні зміни нирок були такими ж, як і за дії НЧ PbS меншого розміру. Разом із цим при дії більших за розміром НЧ, на відміну від НЧ меншого розміру, в епітелії проксимальних канальців нирок з ознаками білкової дистрофії в їх цитоплазмі разом із білковими включеннями виявляли дрібні кристалоподібні включення, що часто проявляли здатність до базофілії (рис. 4 в). При цьому гістохі-

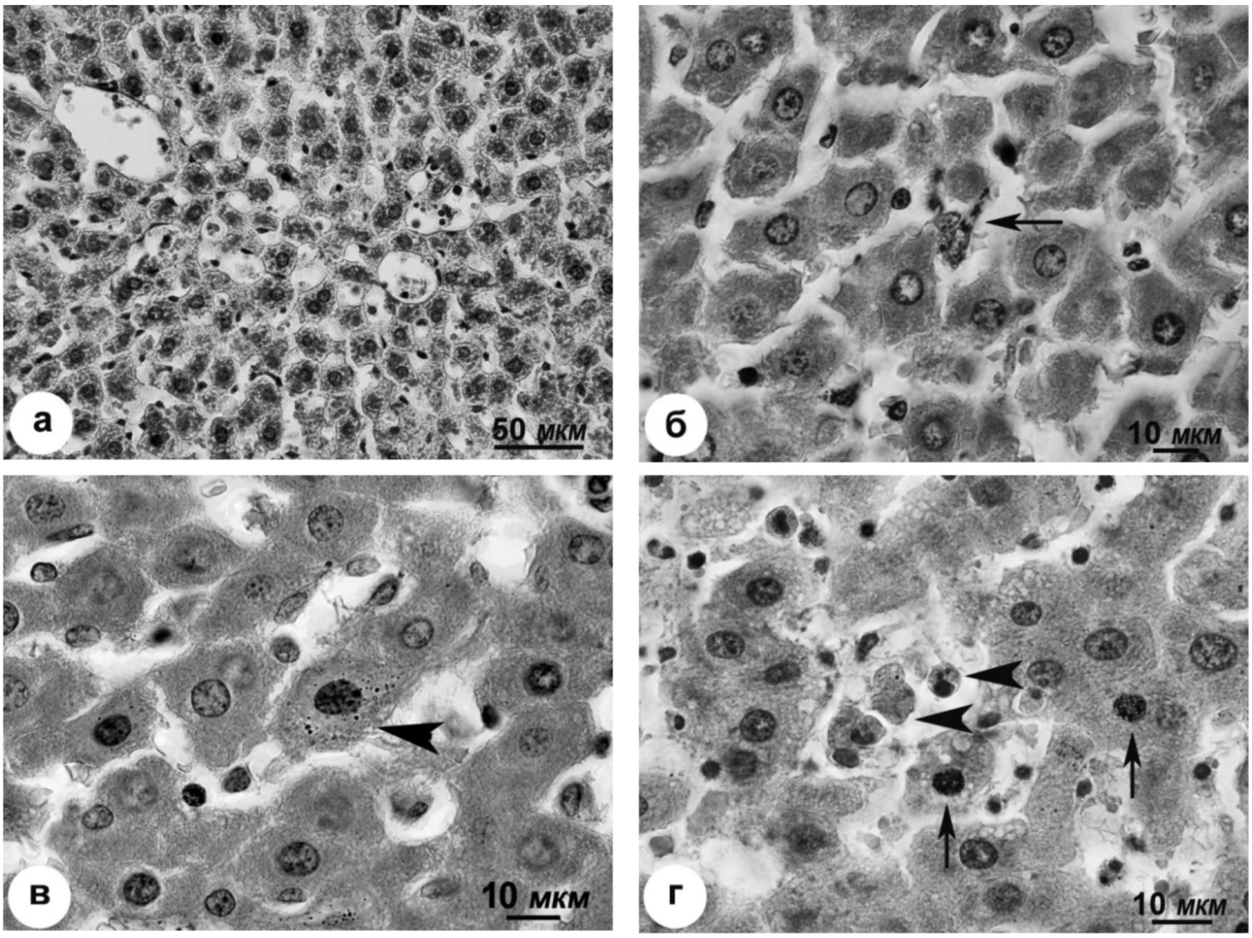

Рис. 3. Гістологічні зміни печінки щурів при дії НЧ PbS розміром 12,5 нм (а, б) і 100 нм (в, г):
а) – розширення просвітів і повнокров'я синусоїдних капілярів; дистрофія гепатоцитів і гіперплазія ЗРЕ; б) – дрібні кристалоподібні включення у цитоплазмі ЗРЕ (←);
в) – дрібні кристалоподібні включення в цитоплазмі гепатоцитів з ознаками набухання (◄);
г) – гетерохроматизація ядер гепатоцитів (↑) і апоптозні тільця в просвітах розширених синусоїдних капілярів (◄). Гематоксилін і еозин.

мічно білкові включення виявляли ряд характерних особливостей. По-перше, більша кількість цитоплазматичних білкових включень була представлена кислими білками, які фарбувалися хромотропом 2Б за методом Мелорі-Слінченко в червоний колір. По-друге, у структурі білкових цитоплазматичних включень кадмій-сульфатом за методом Граніна і Клочкова (модифікований метод Перлса) часто виявляли поліморфні гранулярні включення заліза, (рис. 4 д), що за даними літератури характеризує такі включення, як відкладення катаболічного феритину [9]. По-третє, накопичення в цитоплазмі клітин кристалоподібних включень, здатних до фарбування основними ядерними барвниками, супроводжувалося вираженим ущільненням цитоплазми і ядер клітин, нерідко з ознаками їх гетерохроматизації (рис. 4 в), що вказувало на незворотний характер таких змін, фіналом яких може бути некроз і/або апоптоз.

Відкладення катаболічного феритину в епітелії проксимальних канальців нирок за дії НЧ PbS може бути зумовлено механізмами токсичної дії сполук свинцю, зокрема впливом на процеси метаболізму заліза, порушення яких визначає розвиток надбаного гемохроматозу [19], що морфологічно проявляється різними формами гемосидерозу внутрішніх органів [20].

Результати аналізу виявлених морфологічних змін показали, що їх частота у нирках щурів, які зазнавали тривалої дії НЧ PbS розміром 100 нм, значимо не відрізнялась від дії НЧ PbS розміром 12,5 нм ($p>0,05$; табл. 2).

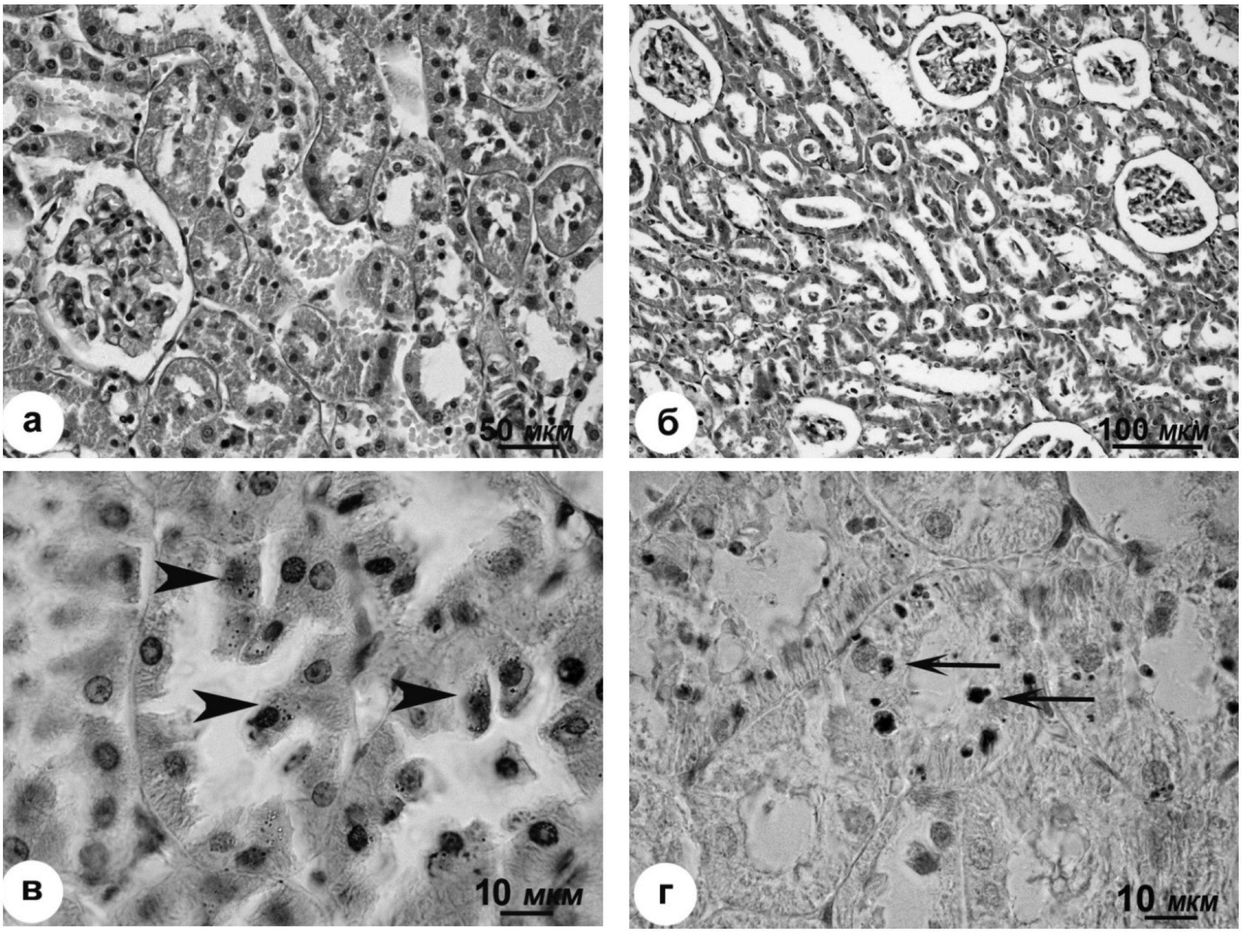

Рис. 4. Гістологічні зміни в нирках щурів за дії НЧ PbS розміром 12,5 нм (а, б,) і 100 нм (в, г): а) – розширення просвітів і повнокрів'я інтратубулярних капілярів, дистрофічні зміни епітелію проксимальних канальців; б) – ацидофільні білкові маси в розширених просвітах проксимальних і дистальних канальців; в) – дрібнокристалічні цитоплазматичні включення в епітелії проксимальних канальцівоплазми (►); г) – білкова дистрофія епітелію проксимальних канальців з включеннями феритину (←).

Таким чином, результати проведених експериментальних досліджень показали, що одержані методом хімічного синтезу НЧ PbS мають форму подовженого еліпса, встановлені розміри якого дозволили розрахунковим методом визначити найбільш важливі для оцінки біологічної та токсичної дії НЧ характеристики, зокрема концентрацію НЧ PbS у колоїдах, середній показник об'єму НЧ, а також середню площу питомої поверхні НЧ.

При цьому було встановлено, що тривала дія на неушкоджену шкіру щурів НЧ PbS розміром 12,5 нм і 100 нм при їх нанесенні на шкіру у концентрації 0,001 ммоль/л (для хімічної речовини: PbS) характеризується тим, що концентрація НЧ розміром 12,5 нм, нанесених на 1 см^2 поверхні шкіри, на 3 порядки перевищує концентрацію НЧ PbS розміром 100 нм. При цьому менші за розміром НЧ PbS характеризуються більшою на 2 порядки середньою питомою площею їхньої поверхні, порівняно з меншими за розміром НЧ PbS, що зумовлює значно більшу площу їх взаємодії з різними структурними елементами поверхні шкіри, порівняно з НЧ більшого розміру.

У ході проведених експериментальних досліджень було встановлено, що тривале нанесення на неушкоджену шкіру щурів НЧ PbS розміром 12,5 нм і 100 нм на відміну від ТГ АС, середній розмір частинок якого дорівнює 700 нм, супроводжується резорбцією НЧ крізь неушкоджену шкіру, що забезпечує процес їх всмоктування в організм і надходження до органів-мішеней, де НЧ здатні проявляти ефект токсичної дії.

Необхідно відзначити, що спектр морфологічних змін у стромі та паренхімі органів-мішеней, які характеризуються порушеннями кровообігу в системі мікроциркуляторного русла міокарда, печінки і нирок, а також розвитком дистрофічних змін у мезенхімі та паренхімі органів відображає складний процес ушкодження, що часто виступає тригерним механізмом розвитку структурних перебудов, які спрямовані на компенсацію частково втрачених органами-мішенями функцій. При цьому різні за характером і спрямованістю морфологічні зміни внутрішніх органів щурів, які розвиваються за тривалої дії на неушкоджену шкіру різних за розміром НЧ PbS визначають особливості біологічної та токсичної дії НЧ. Отже, механізми дії НЧ PbS, безпосередньо залежать не стільки від концентрації діючої на організм хімічної речовини (PbS), скільки від фізико-хімічних характеристик НЧ, що наносилися на неушкоджену шкіру, зокрема концентрації, розміру, форми, а також середньої питомої площі поверхні НЧ. Саме фізико-хімічні характеристики НЧ PbS впливають на процеси їх взаємодії в організмі з різними білками, у тому числі транспортними на етапах всмоктування та транспортування НЧ. На це вказують зміни в стінках кровоносних судин міокарда, капілярів ниркових клубочків, а також білкових включень в епітелії проксимальних канальців нирок. При цьому більші за розміром НЧ на етапах їх взаємодії з білками та проникнення через ендотелій кровоносних судин можуть утворювати з білками агрегати та агломерати, які активно сприймають основні ядерні барвники, визначаючи тим самим їх базофільний характер. Це надає можливості виявляти утворені таким чином кристалоподібні включення за допомогою світлового мікроскопа. Імовірно, що агломерати та агрегати можуть утворювати також і менші за розміром НЧ PbS, але імовірно, що їхні надто дрібні розміри не дають можливості виявляти відкладення таких агрегатів і агломератів у клітинах за допомогою світлового мікроскопа.

Необхідно зазначити, що провідного значення фізико-хімічні характеристики НЧ також набувають для оцінки їхнього впливу на метаболічні процеси. На такі властивості НЧ PbS різного розміру вказують дані гістохімічних досліджень нирок, які встановили, що дія більших за розміром НЧ PbS здатна впливати на процеси метаболізму заліза, що проявляється накопиченням у цитоплазмі епітелію проксимальних канальців кислих білків і катаболічного феритину.

Висновки

1. Результати проведених експериментальних досліджень довели, що неорганічні сполуки свинцю, представлені частинками нанометрового діапазону на відміну від частинок мікрометрового діапазону, за їхньої тривалої дії на неушкоджену шкіру здатні проникати крізь шкіру та потрапля-

ти в органи-мішені, в яких проявляється ефект їхньої токсичної дії. Це набуває не тільки теоретичного, але й практичного значення, бо дозволяє проводити оцінку шкідливого впливу свинцю на здоров'я працюючих і населення з урахуванням можливості щодо резорбції різних сполук свинцю крізь неушкоджену шкіру.

2. Встановлено, що за дії на неушкоджену шкіру щурів однакових за концентрацією сполук свинцю (0,001 ммоль/л), представлених частинками нано- і мікрометрового діапазону, менші за розміром частинки характеризуються значно більшим значенням показника середньої питомої площі поверхні НЧ, ніж НЧ більшого розміру, що визначає значно більшу площу взаємодії менших за розміром НЧ з різними структурними елементами шкіри.

3. Одержані результати визначають найбільш перспективні напрямки подальших досліджень, серед яких провідного значення набувають дослідження ультраструктурних змін органів-мішеней за тривалої дії на неушкоджену шкіру різних за розміром НЧ PbS, а також механізмів резорбції НЧ PbS крізь неушкоджену шкіру

ЛІТЕРАТУРА

1. Луговской С.П. Механизмы биологического действия свинца на пищеварительную систему / С.П. Луговской, Л.А. Легкоступ // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. – 2002. – №2. – С. 45–50.
2. Смоляр В.І. Свинець в харчових продуктах і раціонах / В.І. Смоляр, Г.І. Петрашенко // Проблеми харчування. – 2007. – №4. – С. 42-51.
3. Gidlow D.A. Lead toxicity / D.A. Gidlow // Occupational medicine. – 2004. – V. 54. – C. 76–81.
4. Дмитруха Н.М. Характеристика імунотоксичної дії сполук свинцю з мікро- та наночастинками / Н.М. Дмитруха, С.П. Луговський // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. – 2014. – №1–2. – С. 59–66.
5. Трахтенберг І.М. Свинець – небезпечний полютант. Проблема стара і нова. / І.М. Трахтенберг, Н.М. Дмитруха, І.С. Чекман, В.О. Купрій // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. – 2015. – № 3. – С. 14–24
6. Трахтенберг І.М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості. / І. М. Трахтенберг, Н.М Дмитруха // Український журнал з проблем медицини праці. – 2013. – №4. – С.62–74.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – Київ : Авіцена, 2002. – 156 с.
8. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes: Council of Europe. Strasburg, 1986. – 53 p.
9. Меденцов А.А. Катаболический ферритин, как дополнительный критерий отравления этиловым алкоголем / А.А. Меденцов, Ю.А. Катенева // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – №10. – С.51–52.
10. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов / Д. С. Саркисов, Ю.Л. Петров. – Москва : Медицина, 1996. – 427 с.
11. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов. – Москва : Медицина, 1990. – 384 с.
12. Гублер Е. В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. / Е. В. Гублер. – Москва : Медицина, 1973. – 144 с.
13. Леоненко Н.С. Особливості фізико-хімічних властивостей та токсичної дії наноматеріалів – до проблеми оцінки їхнього небезпечного впливу на живі організми (огляд літератури) / Н.С. Леоненко, О.В. Демецька, О.Б. Леоненко // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. . – 2016. – №1. – С.64–76.
14. Саркисов Д.С. Клинический аспект современных представлений о структурных основах адаптации и компенсации нарушенных функций / Д. С. Саркисов. – Москва : Медицина, 1987. – С. 57–83.
15. Патология: Руководство / под ред. Пальцева М.А., Паукова В.С., Улумбскова Э.Г. – Москва : Гэотар-мед, 2002. – 960 с.
16. Урываева И.В. Репликативный потенциал гепатоцитов и стволовые клетки печени / И.В. Урываева // Известия АН. Сер. биол. – 2001. – №6. – С.728–737.
17. Гарбузенко Д.В. Механизмы компенсации структуры и функции печени при ее повреждении и их практическое значение / Д.В. Гарбузенко // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2008. – №6. – С.14–20.
18. Шалахметова Т.М. О механизмах образования многоядерных гепатоцитов при токсическом действии n-нитрозодиметиламина на крыс / Т.М. Шалахметова, Б.А. Умбаев, С.Ж. Колумбаева, Б.Н. Кудрявцев // Цитология. – 2009. – №1. – С.34–42.
19. Лубянова И.П. Современные представления о метаболизме железа с позиции профпатолога / И.П. Лубянова // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2010. – №2. – С.47-57.
20. Луговський С.П. Гістоморфологічна характеристика гемосидерозу при експериментальній свинцевій інтоксикації / С.П. Луговський // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2009. – №2(16). – С.124–132.

REFERENCES

1. Lugovskyi, S.P. 2002, «Mechanisms of biological action of lead on the digestive system», Modern problems of toxicology, food and chemical safety, no. 2, pp. 45–50 (in Ukrainian).
2. Smolyar, V.I. 2007, «Lead in food and diets», Problems of nutrition. , no. 4, pp. 42–51 (in Ukrainian).
3. Gidlow, D.A. 2004, «Lead toxicity», Occupational medicine. no. 54, pp. 76–81 (in Ukrainian).
4. Dmytrukha, N. M., Lugovskyi, S. P., Lagutina, O. S. 2014, «Characteristics of immunotoxic effect of lead compounds with micro- and nanoparticles», Modern problems of toxicology, food and chemical safety, no. 1–2, pp. 59–66 (in Ukrainian).
5. Trakhtenberg, I. M., Dmytrukha, N. M., Chekman, I.S. Kypriy, V.O. 2015, «Lead-dangerous pollutant. The problem is old and new», Modern problems of toxicology, food and chemical safety, no. 3, pp. 14–24 (in Ukrainian).
6. Trakhtenberg, I. M., Dmytrukha, N. M. 2013, «Nanoparticles of metals, methods of obtaining, spheres of application, physico-chemical and toxic properties», Ukr. J. Occup. Health, no. 4, pp. 62–74 (in Ukrainian).
7. Kozhemiakin, Yu. M., Khromov, O. S, Filonenko, M. A., Saifetdinova, G. A. 2002, Scientific and practical recommendations on maintenance of laboratory animals and work with them. Kyiv : Avicenna, 156 p. (in Ukrainian).
8. European Convention for the protection of vertebrate animal, used for experimental and other scientific purposes, Council of Europe, Strasburg, 1986, 53 p.
9. Medentsov, A.A., Kateneva, U.A. 2005, «Catabolic ferritin as an additional criterium of ethanol intoxication», Modern High Technologies, no. 10, pp. 51–52 (in Russian).
10. Sarkisov, D.S., Petrov, Yu.L. 1996, Microscopic technique. Manual for doctors and laboratory assistants. Moscow : Medicine,. 427 p. (in Russian).
11. Avtandilov G.G. 1990, Medical morphometry. Guidance. Moscow : Medicine, 384 p. (in Russian).
12. Gubler E.V. 1973, Application of nonparametric statistical criteria in biomedical research. Moscow : Medicine, 144 p. (in Russian).
13. Leonenko, N.S., Demetska, O.V., Leonenko, O.B. 2016, «Features of physical and chemical properties and toxic effects of nanomaterials - to the problem of assessing their hazardous effects on living organisms (literature review)», Modern problems of toxicology, food and chemical safety, no. 1, pp. 64–76 (in Ukrainian).
14. Sarkisov, D.S. 1987, Clinical aspects of modern ideas about the structural basis of adaptation and compensation of disturbed functions, Structural basis of adaptation and compensation of disturbed functions. Moscow.: Medicine, pp. 57–83 (in Russian).
15. Palydeva, M. A., Paukova, V.S., Ulumbskova, E.G. 2002, Pathology: Manual. Moscow.: Gaoter-med, 960 p. (in Russian).
16. Uryvaeva, I.V. 2001, «Replication potential of hepatocytes and liver stem cells», Izvestiya AN. Ser. Boil, no. 6, pp. 728–737 (in Russian).
17. Garbuzenko, D.V. 2008, «Mechanism of indemnify cation of structure and liver function at its damage and their practical value», Ros. zhurn. gastroenterol., gepatol., koloproktol, no. 6, pp. 14–20 (in Russian).
18. Shalakhmetova, T.M., Umbayev, B.A., Kolumbayeva, S.Zh., Kudryavtsev, B.N. 2009, «About mechanisms of formation of multinuclear hepatocytes during toxic action of N-nitrosodimethylamine on rats», Tsitologiya, v. 51, no. 1, pp. 32–40 (in Russian).
19. Lubianova, I.P. 2010, «Modern conceptions about the metabolism of iron from the position of the occupational pathologist», Actual problems of transport medicine, no. 2, pp. 47–57(in Ukrainian).
20. Lugovskoy, S.P. 2009, «Morphofunctional characteristic of hemosiderosis at experimental lead intoxication», Actual problems of transport medicine, no. 2, pp. 124–132 (in Ukrainian).

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ИХ НЕПОВРЕЖДЕННУЮ КОЖУ МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ СВИНЦА

С.П. Луговской, М.Н. Диденко, Н.А. Мельник
ГУ «Институт медицины труда имени Ю.И. Кундиева НАМН Украины» г. Киев, Украина

РЕЗЮМЕ. Введение. *Благодаря бурному развитию наноматериалов и нанотехнологий, наночастицы металлов широко внедряются в различные сферы хозяйственной деятельности, что создает потенциальный риск для здоровья работающих и окружающей среды. Особого внимания заслуживают наночастицы свинца, поскольку возможность их образования в производственном процессе достаточно высока, а характер воздействия на организм до сих пор почти не изучен.*

Цель исследования. *Морфо-функциональная оценка внутренних органов крыс при нанесении на их неповрежденную кожу микро- и наночастиц неорганических соединений свинца.*

Материалы и методы. *Проведен хронический эксперимент на 24 крысах-самцах Вистар, которые были разделены на 4 группы. Крысам II, III, IV групп на предварительно выстриженную поверхность кожи спины, площадью 2 см^2, ежедневно (5 дней в неделю) в течение 3 месяцев на 4 часа наносили 1 мл коллоидов наночастиц PbS размером 12,5 нм и 100 нм и водный раствор тригидрата ацетата свинца, I группа — контрольные-интактные крысы. Проводили морфологические исследования внутренних органов (миокард, печень, почки, легкие) с использованием общепринятых гистологических методик.*

Результаты. *Установлено, что длительное нанесение на неповрежденную кожу крыс наночастиц PbS размером 12,5 нм и 100 нм, отличие от водного раствора тригидрата ацетата свинца со средним размером частиц 700 нм, сопровождается резорбцией наночастиц через неповрежденную кожу, что обеспечивает процесс их всасывания в организм и поступление в органы-мишени, где наночастицы способны проявлять эффект токсического действия.*

Выводы. *Наночастицы PbS разных размеров при длительном воздействии на неповрежденную кожу в отличие от частиц микрометрового диапазона вызывают широкий спектр морфологических изменений, которые характеризуют их кардиовазотоксическое, гепатотоксическое и нефротоксического действие.*
Ключевые слова: *наночастицы свинца, кожа, внутренние органы.*

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES IN RATS' INNER ORGANS UNDER CHRONIC EFFECT OF MICRO AND NANO OF INORGANIC COMPOUNDS OF LEAD FOR UNDAMAGED SKIN

S. Lugovskyi, M. Didenko, N. Melnyk

ABSTRACT. *Today there is a rapid development of nanomaterials and nanotechnology. Metal nanoparticles (NPs) are widely implemented in various spheres of economic activity, creating a potential risk for workers' health and the environment. Especial attention deserves nanoparticles of lead since the possibility of their formation in the production process is quite large, and the nature of the effect on the body to these almost not studied.*
The aim of the study. Morpho-functional assessment of internal organs of rats in application micro and nano of inorganic compounds of lead to intact skin.
Materials and Methods. *A chronic experiment was conducted on 24 Wistar male rats, divided into 4 groups. 1 ml of colloids was applied to rats of groups II, III and IV on the previously sheared back skin of 2 cm area, daily (5 days per week) for 3 months for 4 hours. PbS NPs were of size of 12.5 nm and 100 nm, and aqueous solution of lead acetate, group I included control intact rats. A morphological study of internal organs (myocardium, liver and kidney) was carried out, using general histological methods.*
Results of the Study. *It is established that a prolonged exposure to undamaged rats skin of 12.5 nm and 100 nm PbS nanoparticles, unlike aqueous trihydrate lead acetate solution, the average particle size of which is 700 nm, is accompanied by resorption of nanoparticles through the intact skin, which ensures their absorption into the body and intake to target organs, where nanoparticles can exhibit toxic effects.*
Conclusions. *PbS nanoparticles of different sizes with long-term effects on the intact skin in contrast to the particles of the micrometer range cause a wide range of morphological changes, characterized by their cardiovasotoxic, hepatotoxic and nephrotoxic effects.*
Key words: *lead nanoparticles, skin, inner organs.*

Надійшла до редакції 28.07.2017 р.