

© Коллектив авторов, 2017
УДК 546.56+546.47]:611.36:599.323.4

О.Ю.Сипайлова¹, Г.И.Корнеев³, С.А.Мирошников^{1,2}, Е.А.Сизова^{2,4}, Е.А.Русакова¹

ГЕПАТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ (ZnO И CuO)

¹ Институт биоэлементологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»; ² лаборатория агроэкологии техногенных наноматериалов (зав. — канд. биол. наук Е.А.Сизова), ФГБНУЧ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства», г. Оренбург; ³ патологоанатомическое отделение (зав. — В.В.Кабанов), Государственное автономное учреждение здравоохранения ОКБ № 2, г. Оренбург; ⁴ кафедра биологии и почвоведения (зав. — проф. А.М.Русанов), ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»

Изучали печень крыс (n = 15) при однократном внутрибрюшинном введении наночастиц ZnO (95 нм) и CuO (90 нм). Гистологические срезы окрашивали гематоксилином — эозином. Для выявления апоптоза гепатоцитов с помощью иммуногистохимической реакции изучали экспрессию в них каспазы-3; подсчитывали долю иммунопозитивных клеток. Установлен сходный гепатотоксический эффект исследуемых наночастиц. Наиболее значительные деструктивные и необратимые изменения (глубокие нарушения кровообращения, очаговые и/или тотальные некробиотические процессы, изменения в архитектонике органа) обнаружены в подопытной группе с введением наночастиц CuO. Выявленная активация каспазы-3 зависела не только от дозы, времени после инъекции, но и от степени дегенеративных изменений в печени при введении данных наночастиц. Более тяжелые поражения печени сопровождались тем не менее незначительной, в сравнении с контролем, активацией фермента. Особенно отчетливо данная тенденция проявилась в группе животных с применением наночастиц CuO.

Ключевые слова: печень, гепатоциты, апоптоз, каспаза-3, наночастицы металлов

Как известно, широкое применение наноструктур в различных областях биомедицины обусловлено появлением уникальных свойств у традиционных материалов при их переходе в нанодисперсное состояние, открывающих новый спектр возможностей практического применения [1, 6, 19]. Неоспорима востребованность наночастиц (НЧ) металлов и их оксидов в наномедицине [2, 5]. Они способны выступать в качестве основных действующих источников пищевых веществ, в особенности микроэлементов, носителей лекарственных средств, маркеров и многих других функциональных элементов медицинских препаратов и изделий [10, 14]. Не теряет своей актуальности изучение биологических свойств, т. е. способности нанообъектов к взаимодействию с живыми организмами и составляющими их структурами [3, 21]. Малоизученными остаются вопросы возможных нежелательных биологических эффектов — последствий новых специфических свойств нанометаллов при их использовании *in vivo*. Для обеспечения безопасного использования в биомедицинских целях уникальных возможностей наноструктур, в частности эссенциальных

металлов, а также дальнейшего поиска способов нивелирования побочных токсических эффектов, необходим разносторонний подход к изучению их свойств, в первую очередь затрагивающих воздействия на организменный уровень. В этой связи целью данного исследования было изучение морфофункционального состояния печени крыс при воздействии на организм НЧ ZnO (95 нм) и CuO (90 нм).

Материал и методы. Исследования проведены на базе экспериментально-биологической клиники (вивария) Оренбургского государственного университета на самцах крыс линии Вистар массой 150–170 г, находившихся в стандартных условиях на естественном для грызунов корме. Для исследований были сформированы 5 групп крыс: животным 1-й группы (контроль) внутрибрюшинно вводили изотонический раствор хлорида натрия; 2-й группы — НЧ ZnO в дозе 1,75 мг/кг; 3-й группы — НЧ ZnO (8,9 мг/кг); 4-й группы — НЧ CuO (12,5 мг/кг); 5-й группы — НЧ CuO (37,5 мг/кг). Введение суспензий НЧ проводили однократно в объеме, составляющем 1–2% массы тела. По 3 особи каждой группы декапитировали под нембуталовым наркозом через 1, 7 и 21 сут после инъекции. Экспериментальные исследования на животных проводили в соответствии с инструкциями, рекомендуемыми Российским регламентом, 1987 г. и «The Guide

Сведения об авторах:

Сипайлова Ольга Юрьевна (e-mail: osipaylova@mail.ru), *Русакова Елена Анатольевна* (e-mail: elenka_rs@mail.ru), Институт биоэлементологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13

Корнеев Геннадий Иосифович (e-mail: info@okb2.ru), патологоанатомическое отделение, ГАУЗ ОКБ № 2, 460035, г. Оренбург, ул. Невельская, 24

Мирошников Сергей Александрович (e-mail: vniims.or@mail.ru), лаборатория минерального питания, *Сизова Елена Анатольевна* (e-mail: Sizova.L78@yandex.ru), лаборатория «Агроэкология техногенных наноматериалов», ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства», 460000, г. Оренбург, ул. 9 января, 29

Таблица 1

Характеристика наночастиц

Наименование наночастиц	Размер наночастиц, нм	Химический и фазовый состав	Метод получения	Удельная поверхность ($S_{уд}$, м ² /г)	Гидродинамический радиус, нм	Z-потенциал, мВ
CuO	90	Оксид двухвалентной меди, CuO 99,6% масс	Плазмохимический синтез	14	139±16,2	47±0,1
ZnO	95	ZnO: 96%; Оксиды других металлов: не более 4%	Плазмохимический синтез	9	120±25	25±3,0

for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)». Приготовление суспензии НЧ для введения проводили путем диспергирования нанопорошков в изотоническом растворе хлорида натрия на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2Т («НПП Академприбор», Россия), в режиме: 3-кратное диспергирование по 1 мин с перерывом 3 мин (табл. 1).

Кусочки печени фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафиновую смесь HistoMix (Эргопродактн, Россия). Печень изучали на гистологических срезах толщиной 5–6 мкм, изготовленных на полуавтоматическом микротоме МЗП 01 (Техном, Россия) и окрашенных гематоксилином — эозином. Для выявления запрограммированной клеточной гибели гепатоцитов (апоптоза) иммуногистохимически выявляли экспрессию каспазы-3 в их цитоплазме и ядрах в ходе окраски срезов в соответствии со стандартной процедурой, рекомендованной производителем набора (Bioss Medical, LLC, США). Каспаза-3 является одним из ферментов, принимающих участие в развитии апоптоза, являющегося общебиологическим, фундаментальным механизмом, ответственным за поддержание постоянства численности клеток, формообразование, выбраковку дефектных клеток [4]. Определяли относительное содержание иммунопозитивных клеток при подсчете 1000 клеток и выражали в %. Основные данные, полученные в исследованиях, были обработаны с использованием программ «Excel» и «Statistica 10». Оценку статистической значимости эффектов оценивали по U-критерию Манна—Уитни и критическим уровнем значимости считали $P < 0,05$.

Результаты исследования. Морфофункциональное состояние печени крыс при введении НЧ ZnO. При введении НЧ ZO в дозе 1,75 мг/кг через 1 сут гистологическое строение печени экспериментальных крыс было близко к таковому у контрольной группы животных. Несмотря на сохранение долькового строения печени и пластинчатого расположения гепатоцитов, сами пластинки были расширены за счет увеличения размеров гепатоцитов, в цитоплазме которых были выявлены мелкие вакуоли. На 7-е сутки наблюдалось нарастание патоморфологических изменений с развитием диффузного вакуольного гепатоза, нарушений кровообращения в виде усиленного полнокровия центральных вен и синусоидных капилляров с развитием стазов и некробиотических процессов в гепатоцитах (лизиса цитоплазмы, кариорексиса и кариолизиса). Отмечено формирование мелких очагов центробиотических некрозов гепатоцитов. Через 21 сут после инъекции изменения в гистологическом строении печени уменьшались. Нарушение

кровообращения проявлялось только умеренным полнокровием портального тракта, дистрофические изменения имели мелкокапельный характер, занимая, тем не менее, обширные участки. Некроз наблюдался среди немногочисленных гепатоцитов.

Увеличение дозы вводимых НЧ ZnO до 8,9 мг/кг — животным 3-й подопытной группы, уже через 1 сут после инъекции усиливало патологические изменения, по сравнению с таковыми у животных 2-й группы. Полнокровие сосудов портального тракта сопровождалось отеком печеночных пластин и усилением периваскулярной клеточной пролиферации. В отдельных участках долек обнаруживались мелкие очаги некроза, объединяющие несколько гепатоцитов с полным их рексисом и лизисом (рис. 1).

Спустя 7 сут, по-прежнему наблюдался диффузный гепатоз с тотальной дистрофией цитоплазмы гепатоцитов. Очаги их некроза захватывали небольшие участки долек. Полнокровие расширенных центральных вен и синусоидных капилляров сопровождалось набуханием стенок как сосудов, расположенных между дольками, так и центральных вен. На 21-е сутки патологические изменения уменьшались. Дистрофические нарушения строения гепатоцитов наблюдались локально и проявлялись зернистыми и мелковакуольными изменениями цитоплазмы. Выявлялись островки пролиферации гепатоцитов, где их размеры были несколько меньше, они были расположены теснее, имели более крупные, ядра, что свидетельствовало об активизации процессов регенерации в печени.

Оценка экспрессии в гепатоцитах каспазы-3 показала увеличение числа клеток в процессе апоптоза в обеих подопытных группах, начиная с 1-х суток после введения НЧ ZO (табл. 2). Наиболее высокие показатели в этот период были отмечены у крыс под действием меньшей дозировки, но с отчетливо выраженной общей тенденцией нарастания степени экспрессии к 7-м суткам у крыс 2-й и 3-й подопытных групп. Наибольшая разница с контролем в это время наблюдалась при введении максимальной дозы НЧ (8,9 мг/кг). Иммунопозитивные клетки обнаруживались

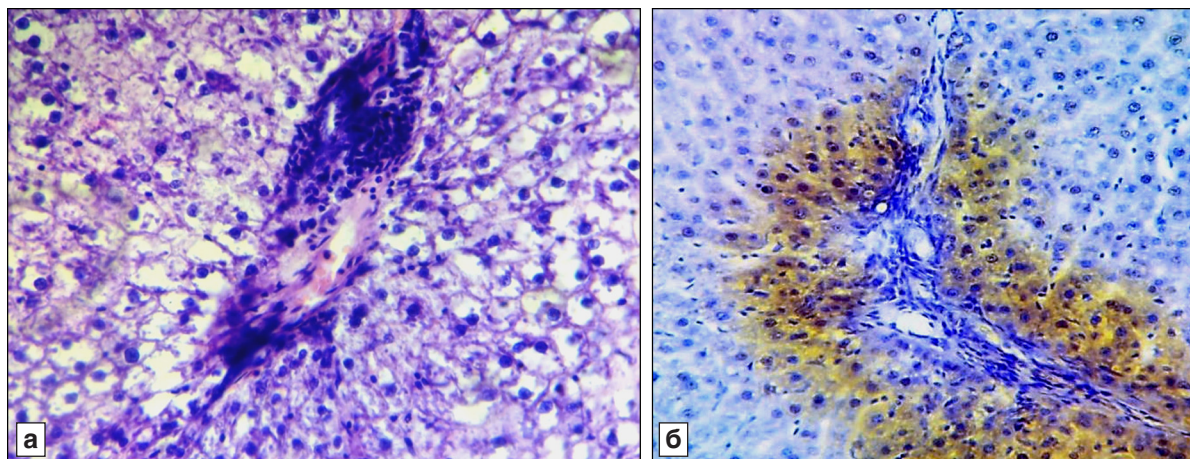


Рис. 1. Печень крысы через 1 (а) и 7 сут (б) после инъекции наночастиц ZnO в дозе 8,9 мг/кг.

а — тяжелая вакуольная дистрофия гепатоцитов; усиленная клеточная пролиферация по ходу портального тракта; б — усиление экспрессии каспазы-3 в цитоплазме и ядрах перипортальных гепатоцитов (желто-коричневая окраска). а — окраска гематоксилином — эозином; б — иммуногистохимическая реакция. Ув. 400

Таблица 2

Показатели экспрессии антигена каспазы-3 в гепатоцитах у крыс при введении наночастиц (НЧ) оксида цинка и оксида меди ($\bar{x} \pm s_x$, %)

Группы животных и дозы введенных НЧ, мг/кг	Срок после введения, сутки		
	1-е	7-е	21-е
1-я (контроль)	0,77±0,14	0,77±0,14	0,77±0,14
ZnO:			
2-я (1,75)	2,3±0,5*	3,6±1,1**	1,9±0,6
3-я (8,9)	1,9±0,6	6,3±1,9**	2,8±0,8*
1-я (контроль)	0,60±0,15	0,60±0,15	0,60±0,15
CuO:			
2-я (12,5)	0,90±0,23	0,57±0,23	0,56±0,16
3-я (37,5)	7,2±1,4**	0,96±0,23	0,59±0,19

* Различия значимы по сравнению с контролем при $P \leq 0,01$; ** при $P \leq 0,001$.

в основном вокруг междольковых вен (см. рис. 1, б).

Через 21 сут количество иммунопозитивных гепатоцитов значительно сократилось в обеих подопытных группах по сравнению с контролем.

Морфофункциональное состояние печени крыс при введении НЧ CuO. Для печени через 1 сут после введения НЧ CuO в дозе 12,5 мг/кг (4-я группа) было характерно полнокровие центральных вен и синусоидных капилляров, сопровождающееся отеком печеночных пластинок и их дискомплексацией, преимущественно в центральных частях долек. Отмечено большое количество звездчатых макрофагов (клеток Купфера). К 7-м суткам после инъекции развивался диффузный мелко- и крупнокапельный вакуольный гепатоз с разрушением структуры пластинок гепатоцитов и формированием мелких очагов некроза. Тяжесть степени поражения печени под действием НЧ CuO

подтверждалась гистологическими изменениями на 21-е сутки после их введения. Процессы нарушения кровообращения в виде усиленного полнокровия, явлений стаза и тромбоза синусоидных капилляров сочетались с дискомплексацией гепатоцитов и образованием не только диффузной вакуольной дистрофии, но и обширных очагов некроза. Отмечена пролиферация эндотелия, набухание интимы и средней оболочки сосудов. Увеличение дозировки НЧ CuO до 37,5 мг/кг (5-я группа) приводило к развитию через 1 сут наблюдения патологических изменений печени, схожих с таковыми в 4-й группе. Центральная вена и синусоидные капилляры были расширены, переполнены кровью. Размер печеночных пластинок был увеличен в результате набухания и гипертрофии гепатоцитов. Гепатоз имел очаговый характер с преимущественной локализацией в центральных частях долек. Через 7 сут наблюдалась диффузная вакуольная дистрофия преимущественно крупнокапельного характера, распространялась на гепатоциты всей дольки, с разрушением структуры пластинок и формированием крупных сливных очагов некроза (рис. 2).

На фоне тяжелых деструктивных изменений печени, при введении НЧ CuO результаты иммуногистохимической реакции на каспазу-3 были неоднозначны (см. табл. 2).

Наблюдалась активация экспрессии маркера только через 1 сут после введения НЧ в дозе 37,5 мг/кг, причем в наибольшей степени у животных 3-й группы. Продукт реакции был обнаружен преимущественно в виде светлых гранул грязно-желтого цвета в цитоплазме небольшого числа гепатоцитов.

Обсуждение полученных данных. Выявленные морфологические изменения в ткани

печени у крыс после однократного введения НЧ ZnO и CuO свидетельствуют о гепатотропном воздействии этих нанометаллов даже в минимально выбранной концентрации и напрямую зависят от дозы НЧ. Выявлена разница в степени тяжести изменений — необратимого характера (вплоть до 21-х суток) после инъекции НЧ CuO и относительное восстановление структуры печени и активизация в ней процессов регенерации к этому времени у крыс, получивших НЧ ZnO. В качестве одного из вариантов развития и прогрессирования деструктивных процессов, после 1-кратного введения НЧ в обеих группах можно рассматривать дисциркуляторные нарушения в органе [17]. Подобные патологические изменения выявлены И.В. Мильто и И.В. Суходоло [7], которые установили, что внутривенное введение НЧ магнетита вызывает ряд патологических изменений во внутренних органах у крыс, в том числе и в печени, где обнаружены дистрофические и некротические изменения гепатоцитов, а также комплекс гемодинамических нарушений. К возможным механизмам токсического эффекта исследуемых НЧ можно отнести как прямое их цитотоксическое действие на гепатоциты, так и опосредованные пути воздействия. В числе последних предположительно могут выступить следующие: 1) нарушение микроциркуляторного русла в результате образования агрегатов НЧ, с последующей эмболией сосудов и развитием гипоксических повреждений клеток [11], 2) запуск свободно-радикальных процессов, обусловленных прежде всего поверхностными свойствами НЧ [16, 18] и приводящих к повреждению и даже разрушению клеточных структур по механизму окситоза (апоптоза, вызванного окислительным стрессом) [20]. Факт активации процессов свободнорадикального окисления под действием НЧ ZnO был установлен в исследованиях на молоди карпа (*Cyprinus carpio*), а наиболее уязвимыми в этом отношении внутренними органами были мозг и печень [15]. Способность НЧ CuO, ZnO (50–70 нм) к механическому разрушению клеточных мембран, вероятно, может лежать в основе прямого механизма деструкции гепатоцитов [12]. В подтверждение данного предположения выступает и факт установления цитотоксичности наночастиц CuO, ZnO (300–500 нм) в эксперименте с эпителиальными клетками человека [20]. В числе причин установленной высокой цитотоксичности НЧ CuO (20 нм) при их интратрахеальном введении крысам, рассматриваются как внутриклеточный релиз ионов меди при их растворении, так и прямой контакт персистирующих частиц с клеточными органеллами (в первую очередь митохондриями) и их повреждение [8]. Механические разрушения в клетках, в свою очередь, могут способствовать

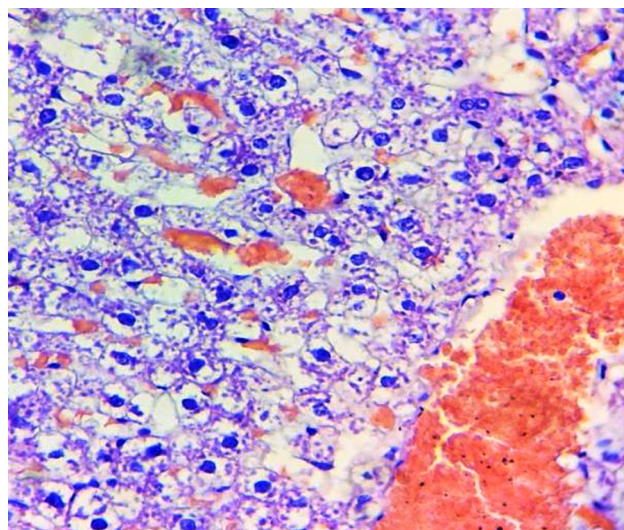


Рис. 2. Печень крысы через 7 сут после инъекции наночастиц CuO в дозе 37,5 мг/кг.

Полнокровие, стаз в центральной вене и синусоидных капиллярах; вакуольная дистрофия, некроз гепатоцитов. Окраска: гематоксилином—эозином. Ув. 400

активации клеточной системы мононуклеарных фагоцитов, захватывающих и накапливающих наноразмерные частицы [9], развитию воспаления, а также, возможно, и индукции апоптоза в печени, а именно усилению экспрессии проапоптотического белка каспазы-3, выявленной нами в печени животных экспериментальных групп. Так как клетки, находящиеся в состоянии апоптоза, теряют функциональную состоятельность, то это непосредственно оказывает влияние на функции органа в целом. Возможным объяснением проявившейся в экспериментальных группах разной степени экспрессии каспазы-3 в печени, с видимым превосходящим эффектом при введении НЧ ZnO, на фоне менее выраженных морфологических изменений в печени, может стать наличие различных механизмов развития некробиотических процессов, напрямую связанных с отличительными физико-химическими характеристиками исследуемых НЧ. Различия в степени тяжести патологических процессов в печени в подопытных группах аналогично можно обосновать отличиями в физико-химических параметрах НЧ CuO и ZnO: разницей в показателях поверхностного заряда [13] и площади удельной поверхности, имеющих большее значение у НЧ CuO, что, по-видимому, и способствовало более выраженному гепатотоксическому воздействию у подопытных крыс, которым инъецировали данные НЧ.

Таким образом, по тяжести поражения печени, обратимости морфологических изменений и уровню активации проапоптотического белка каспазы-3, можно судить о наличии гепатотоксического эффекта у НЧ CuO и ZnO, при их одно-

кратном внутрибрюшинном введении лабораторным животным, в большей степени выраженного у крыс, получавших НЧ CuO (90 нм).

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 14-36-00023.

ЛИТЕРАТУРА

- Арсентьева И.П., Зотова Е.С., Фолманист Г.Э. и др. Аттестация наночастиц металлов, используемых в качестве биологически активных препаратов // Нанотехника. 2007. № 10. С. 72–77.
- Благитко Е.М. О целесообразности введения нанопрепаратов серебра как антибактериальных и противовирусных средств в медицинскую практику в Российской Федерации // Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием. Новосибирск, 2007. Ч. 2. С. 36–39.
- Бородулин В.Б., Горошинская И.А., Качесова П.С. и др. Изучение биологического действия наночастиц железа // Росс. нанотехнол. 2015. Т. 10, № 3–4. С. 86–93.
- Дмитриева Е.В., Москалева Е.Ю., Коган Е.А. и др. Роль системы Fas/Fas-L в индукции апоптоза гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах // Арх. патол. 2003. Т. 65, № 6. С. 13–17.
- Каплун А.П., Безруков Д.А., Родина А.В. и др. Современная наномедицина // Нанотехника. 2007. № 2. С. 3–8.
- Крутиков Ю.А., Коптев В.Ю., Кудринский А.А. и др. Определение содержания серебра в тканях и органах цыплят-бройлеров после орального и ингаляционного применения водных дисперсий наночастиц серебра // Гигиена и санитария. 2016. № 2. С. 207–211.
- Мильто И.В., Суходоло И.В. Структурные изменения некоторых органов крыс после однократного внутривенного введения наноразмерного магнетита // Морфология. 2012. Т. 141, вып. 2. С. 49–53.
- Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А., Логинова Н.В. и др. Цитологические и биохимические особенности жидкости, получаемой при бронхоальвеолярном лаваже у крыс после интратрахеального введения наноразмерных меднооксидных частиц // Токсиколог. вестн. 2014. № 5. С. 8–15.
- Duffin R., Tran L., Brown D. et al. Proinflammatory effects of low-toxicity and metal nanoparticles in vivo and in vitro: highlighting the role of particle surface area and surface reactivity // Inhalation Toxicol. 2007. Vol. 19. P. 849–856.
- Egorova E. M. Biological effects of silver nanoparticles. In: Silver Nanoparticles: Properties, Characterization and Applications. New York: Nova Science Publishers, 2010. P. 221–258.
- Griffitt R.J., Weil R., Hyndman K.A. et al. Exposure to copper nanoparticles causes gill injury and acute lethality in Zebrafish (*Danio rerio*) // Environ. Sci. Technol. 2007. Vol. 41, № 23. P. 8178–8186.
- Heinlaan M., Ivask A., Blinova I. et al. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus* // Chemosphere. 2008. Vol. 71, № 7. P. 1308–1316.
- Hu X., Cook S., Wang P., Hwang H.-M. In vitro evaluation of cytotoxicity of engineered metal oxide nanoparticles // Sci. Total Environ. 2009. Vol. 407. P. 3070–3072.
- Huang X., Jain P.K., El-Sayed I.H., El-Sayed M.A. Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy // Nanomedicine. 2007. Vol. 2, № 5. P. 681–693.
- Linhua H., Lei C. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles // Ecotoxicol. Environ. Safety. 2012. Vol. 80. P. 103–110.
- Ma P., Luo Q., Chen J. et al. Intraperitoneal injection of magnetic Fe₃O₄-nanoparticle induces hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in mice // Int. J. Nanomedicine. 2012. Vol. 7. P. 4809–4818.
- Nishimori H., Kondoh M., Isodaa K. et al. Silica nanoparticles as hepatotoxicants // Eur. J. Pharmaceut. Biopharmaceut. 2009. Vol. 72, № 3. P. 496–501.
- Schins R.P., Knaapen A.M., Cakmak G.D. Oxidant-induced DNA damage by quartz in alveolar epithelial cells // Mutat. Res. 2002. Vol. 517, № 1. P. 77–86.
- Shatskaya N.V., Levina A.S., Repkova M.N. et al. Delivery of bleomycin A5 into cells using TiO₂ nanoparticles to enhance the degradation of intracellular DNA // Nanotechnol. Russia. 2013. Vol. 8, № 3–4. P. 277–282.
- Wang Z., Li N., Zhao J. et al. CuO nanoparticle interaction with human epithelial cells: cellular uptake, location, export, and genotoxicity // Chem. Res. Toxicol. 2012. Vol. 25, № 7. P. 1512–1521.
- Yu C.H., Oduro W., Kin Tam, Tsang E.S.C. Some Applications of Nanoparticles. In: Handbook of Metal Physics. Chapter 10. Amsterdam: 2008. Vol. 5. P. 365–380.

Поступила в редакцию 12.10.2016

Получена после доработки 22.11.2016

HEPATOTOXIC EFFECT OF NANOPARTICLES OF METAL OXIDES (ZNO AND CUO)

O.Yu. Sipaylova¹, G.I. Korneyev³, S.A. Miroshnikov^{1,2}, Ye.A. Sizova^{2,4}, Ye.A. Rusakova¹

The liver was examined in rats ($n = 15$) after a single intraperitoneal injection of nanoparticles of ZnO (95 nm) and CuO (90 nm). Histological sections were stained with hematoxylin–eosin. To detect hepatocyte apoptosis, the expression of caspase-3 was studied using an immunohistochemical reaction; the proportion of immunopositive cells was counted. It was demonstrated that hepatotoxic effect of nanoparticles studied was similar. Most significant destructive and irreversible changes (severe circulatory disorders, focal and / or total necrotic processes, changes in the architectonics of the organ) were found in the experimental group which received injections of CuO nanoparticles. The demonstrated activation of caspase-3 depended not only on the dose and time period after injection, but also on the degree of degenerative changes in the liver during administration of the nanoparticles. However, comparatively severe liver lesions were accompanied by considerably insignificant (in comparison with the control) activation of the enzyme. This trend was most evident in the group of animals that received CuO nanoparticles.

Key words: liver, hepatocytes, apoptosis, caspase 3, metal nanoparticles

¹ Institute of Bioelementology, Orenburg State University;

² Laboratory of Agroecology of Technogenous Nanomaterials, Russian Research Institute of Beef Cattle Breeding, Orenburg;

³ Pathologic Anatomy Unit, Regional Clinical Hospital № 2, Orenburg; ⁴ Department of Biology and Soil Science, Orenburg State University