

© РЯБОВА Ю.В., ТАЖИГУЛОВА А.В., 2022

Читать
онлайн
Read
online

Рябова Ю.В., Тажигулова А.В.

Оценка цитотоксического комбинированного действия наночастиц оксидов селена и меди в остром эксперименте на крысах

ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия

Введение. В известной нам научной литературе нет данных об экспериментальном изучении комбинированного действия наночастиц (НЧ) оксидов селена (SeO) и меди (CuO), воздействие которых на организм рабочих возможно в металлургическом производстве.

Материалы и методы. Путём однократного интратрахеального введения наночастиц оксидов селена и меди в концентрации 0,25 мг/мл аутобредным крысам-самкам моделировали цитотоксическое действие изучаемых частиц. Через 1 сут после введения суспензии оценивали цитологические и биохимические показатели жидкости бронхоальвеолярного лаважжа.

Результаты. Реакция глубоких дыхательных путей на комбинированное действие НЧ SeO и НЧ CuO является более выраженной, нежели на какие-либо из этих частиц при изолированном введении, что свидетельствует о более высокой цитотоксичности комбинации изученных НЧ. Комбинированное цитотоксическое действие наночастиц оксидов селена и меди характеризуется типологическим разнообразием, однако по большинству изученных показателей выявлен аддитивный характер комбинированного действия высоких доз НЧ SeO и НЧ CuO, когда исследованные вещества усиливали токсическое действие друг друга.

Ограничения исследования. Исследование было ограничено изучением основных показателей цитотоксического действия.

Заключение. При оценке многофакторного риска для здоровья рабочих во избежание занижения реальной оценки суммарного риска в химико-металлургических и шламовых цехах медеплавильных предприятий необходимо учитывать аддитивный характер комбинированного действия изученных токсикантов.

Ключевые слова: наночастицы; селен; медь; эксперимент; комбинированное действие; изоболы; поверхность отклика

Соблюдение этических стандартов. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Протокол исследования одобрен Локальным независимым этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол № 2 от 20.04.2021 г.).

Для цитирования: Рябова Ю.В., Тажигулова А.В. Оценка цитотоксического комбинированного действия наночастиц оксидов селена и меди в остром эксперименте на крысах. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(12): 1588-1595. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1588-1595> <https://elibrary.ru/tvkkxog>

Для корреспонденции: Рябова Юлия Владимировна, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и биопрофилактики ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург. E-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Участие авторов: Рябова Ю.В. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, подготовка рисунков, написание текста, редактирование; Тажигулова А.В. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка данных. 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: 27.10.2022 / Принята к печати: 08.12.2022 / Опубликовано: 12.01.2023

Yuliya V. Ryabova, Anastasia V. Tazhigulova

Evaluation of the cytotoxic combined effect of selenium and copper oxide nanoparticles in an acute experiment on rats

Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation

Introduction. In the scientific literature known to us, there are no experimental data on the combined human health effect of nanoparticles of selenium and copper oxides, the exposure to which is feasible in metallurgy.

Materials and methods. The cytotoxic effect was modelled on outbred female rats by a single intratracheal instillation of suspended nanoparticles of selenium and copper oxides at a concentration of 0.25 mg/ml. Cytological and biochemical parameters of the bronchoalveolar lavage fluid were evaluated 24 hours after the administration of the suspension.

Results. The response of the lower airways to the combined exposure to SeO and CuO nanoparticles was more pronounced than that to the exposure to either of them, thus indicating its higher cytotoxicity as judged by cytological and biochemical parameters of the bronchoalveolar lavage fluid. The combined cytotoxic effect of SeO and CuO nanoparticles was characterized by typological diversity. According to the overwhelming number of the parameters studied, the additive nature of the combined effect of high exposure doses of SeO and CuO nanoparticles was demonstrated.

Limitations. The research was limited to the study of the main indicators of cytotoxic effects.

Conclusion. To avoid underestimation of the cumulative health risk for workers in the chemical and slime shops of copper smelters, it is important to take into consideration the additive nature of the combined effect of toxicants under study.

Keywords: nanoparticles; selenium; copper; experiment; combined exposure; isobole; response surface

Compliance with ethical standards. The study was conducted in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. The study protocol was approved 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, 2021).

For citation: Ryabova Yu.V., Tazhigulova A.V. Evaluation of the cytotoxic combined effect of selenium and copper oxide nanoparticles in an acute experiment in rats. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(12): 1588-1595. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1588-1595> <https://elibrary.ru/tvkkxog> (In Russian)

For correspondence: *Yuliya V. Ryabova*, research assistant, Laboratory of Scientific Bases for Biological Prophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: ryabova@ymrc.ru

Information about the authors:

Ryabova Yu.V., <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479> Tazhigulova A.V., <https://orcid.org/0000-0001-9384-8550>

Contribution: *Ryabova Yu.V.* – research concept and design, data collection and processing, statistical analysis, manuscript preparation, and editing; *Tazhigulova A.V.* – research concept and design, data collection and processing, statistical analysis. *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: October 27, 2022 / Accepted: December 8, 2022 / Published: January 12, 2023

Введение

Селен может быть получен преимущественно при комплексной переработке различных видов сульфидного сырья [1]. Шламы, образующиеся при электролитическом рафинировании анодной меди, служат основными (90%) промышленными источниками селена [1–3]. Халькогенам, к которым относится селен, свойственно значительное улетучивание при высокотемпературной обработке. Переход селена в газовую фазу при обжиге медного концентрата составляет 45–60% [1]. Упомянутые процессы, так или иначе связанные с эффектами дезинтеграции и конденсации материалов, сопровождаются образованием аэрозолей сложного состава [4]. В их дисперсном составе преобладают частицы, значительная часть которых может быть отнесена к частицам нанометрового диапазона [4, 5].

Многочисленными исследованиями как *in vitro*, так и *in vivo* были продемонстрированы цитотоксические эффекты наночастиц на лёгочную ткань. Например, наночастицы алюминия, титана и кремния размером от 10 до 60 нм стимулировали образование активных форм кислорода и снижали уровень аденозинтрифосфата в культуре раковых клеток A549, полученных из бронхоальвеолярной карциномы человека [6]. На той же клеточной культуре было показано снижение жизнеспособности клеток дозозависимым образом и одномоментно повышение концентрации АФК в среде при воздействии наночастиц диоксида кремния размером 15 и 46 нм [7]. В исследовании на крысах выявили токсическое действие наночастиц оксида индия-олова, сопряжённое с развитием острой воспалительной реакции после интратрахеального воздействия [8]. После кратковременной ингаляционной экспозиции к наночастицам оксида церия у крыс наблюдали воспалительный эффект в лёгких [9]. Наночастицы оксида меди демонстрировали цитотоксическое действие на клеточной культуре HUVEC, вызывая окислительный стресс с последующей гибелью клеток [10]. Токсичность этих наночастиц в отношении раковых клеток также тесно связана с генерацией АФК [11]. Показано, что воздействие наномеди размером 100 нм на клетки гранулёзной опухоли яичников человека (линия COV434) снижало их жизнеспособность и потенциал митохондриальной мембраны, увеличивало скорость апоптоза и индуцировало окислительный стресс [12]. Цитотоксическое действие наноселена неоднозначно, и даже характерные для большинства наночастиц проокислительные эффекты он проявляет не всегда, порой реализуя антиоксидантную активность [13]. Так, с одной стороны, известна противоопухолевая активность наноселена [14–16], а с другой стороны, имеются данные о способности наноселена генерировать свободные радикалы [17]. Вероятно, цитотоксическое действие наноселена реализуется за счёт способности взаимодействовать с клеточными мембранами [14] и накапливаться в клетках, в том числе в их митохондриях [18].

Экспериментальное изучение и математическое моделирование комбинированного воздействия вредных факторов, характерного для конкретных производственных процессов, выступает в качестве научной основы оценки многофакторных профессиональных и экологических рисков [19]. В частности, комбинированное действие на организм наночастиц

(НЧ) оксидов селена (НЧ SeO) и меди (НЧ CuO) возможно в медеплавильных, электролитных и шламовых цехах медеплавильных предприятий. Таким образом, оценка комбинированного действия наночастиц оксидов селена и меди представляется актуальной задачей и является *целью* данного экспериментального исследования.

Материалы и методы

Растворы суспензий НЧ концентрацией 0,25 мг/л, задействованных в экспериментальном исследовании, были получены на базе ЦКП «Современные нанотехнологии» ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» по методу лазерной абляции (рис. 1, 2). Методика получения и характеристики НЧ были подробно описаны нами ранее [20].

Для экспериментального исследования острого цитотоксического действия НЧ SeO и НЧ CuO были использованы аутбредные крысы-самки.

Животным вводили под эфирным рауш-наркозом:

- по 0,5 мл суспензий НЧ SeO и CuO в концентрации 0,25 мг/мл НЧ – группа «НЧ SeO + НЧ CuO» (10 особей);
- по 1 мл суспензий НЧ SeO или CuO в концентрации 0,25 мг/мл НЧ: группа «НЧ SeO» (10 особей) и группа «НЧ CuO» (10 особей);
- по 1 мл стерильной деионизированной воды без частиц – группа «Контроль».

Забор бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) осуществлялся спустя 1 сут после интратрахеального введения по описанной ранее методике [20], после жидкость помещалась в охлаждённые пробирки, объём фиксировали. В меланжер для белых кровяных телец вместе с метиленовым синим, растворённым в 3%-й уксусной кислоте, забирали аликвотную пробу БАЛЖ. Подсчёт общего числа клеток осуществляли методом оптической микроскопии с использованием камеры Горяева. Из осадка БАЛЖ, центрифугированного в течение 4 мин при 200 g, готовили мазки, которые окрашивали азур-эозином и микроскопировали для определения процента альвеолярных макрофагов (АМ), нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) на 100 подсчитанных клеток. Для определения активности фагоцитарного ответа проводили клеточные тесты оценки активности и интенсивности фагоцитоза [21]. Биохимические показатели надосадочной жидкости БАЛ были охарактеризованы при помощи анализатора Cobas Integra 400 plus (Roche Diagnostics GmbH, Германия) с использованием соответствующих диагностических наборов.

Статистическую значимость межгрупповых различий средних значений оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

Результаты

На рис. 3 на основании данных, полученных методом оптической микроскопии, показано выраженное увеличение общей клеточности и абсолютного числа НЛ при комбинированном действии НЧ SeO и НЧ CuO в сравнении с показателями группы «Контроль» и групп изолированного воздействия. Возрастает соотношение НЛ/АМ (рис. 4).

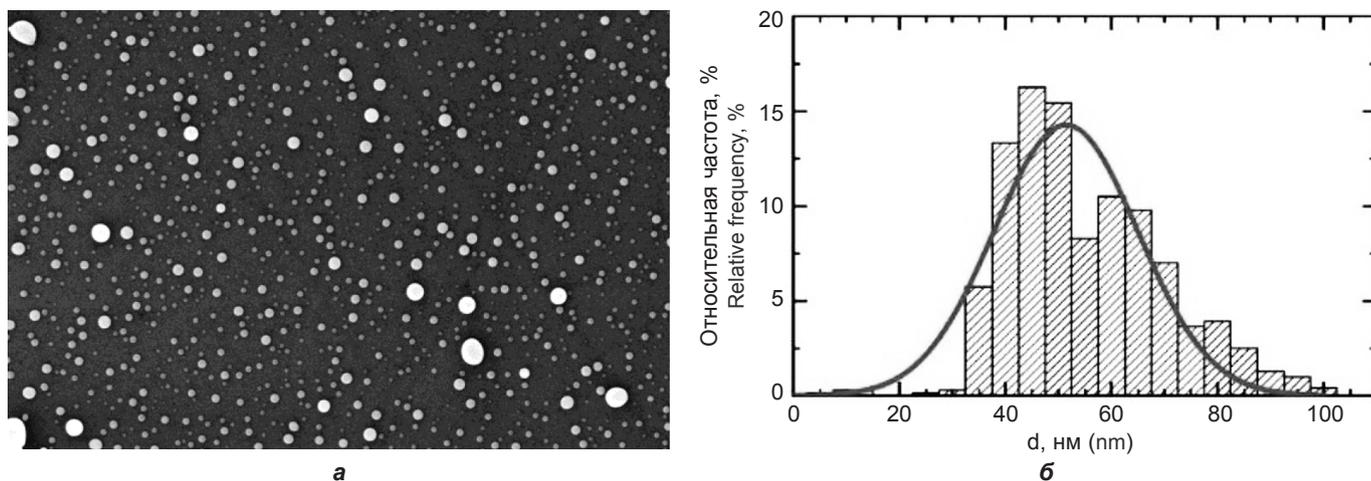


Рис. 1. а – НЧ SeO в суспензии (электронная микроскопия, увеличение × 20 200); б – график распределения частиц по диаметру, демонстрирующий, что средний диаметр использованных НЧ SeO составил 51 ± 14 нм.

Fig. 1. а – The SeO NPs in suspension (electron microscopy, × 20,200 magnification); б – the nanoparticle diameter distribution graph (the average diameter of the used SeO NPs was 51 ± 14 nm).

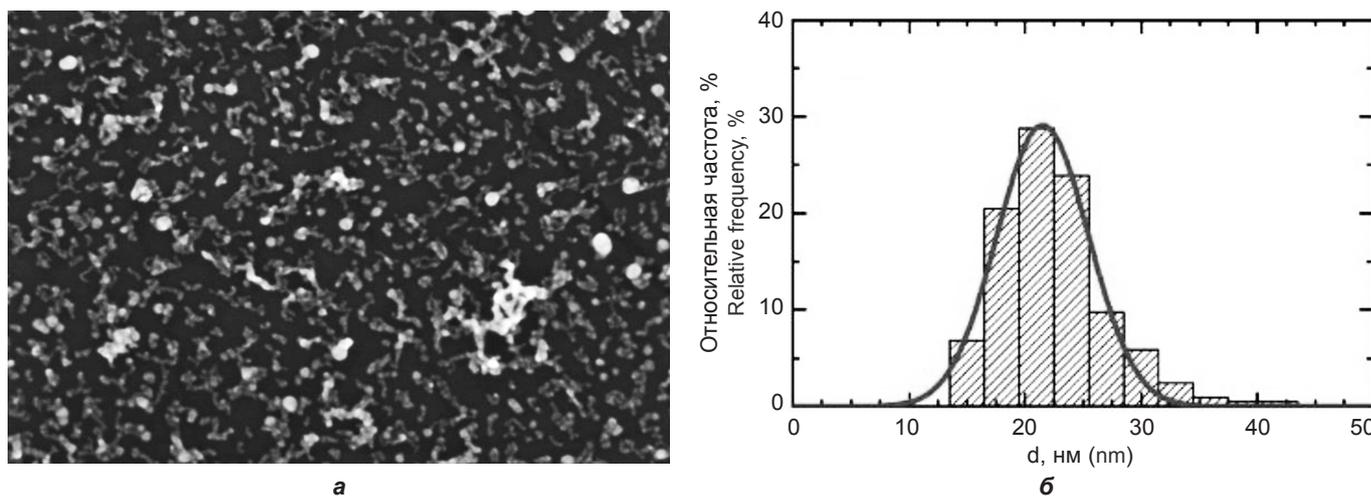


Рис. 2. а – НЧ CuO в суспензии (электронная микроскопия, увеличение × 100 000); б – график распределения частиц по диаметру, демонстрирующий, что средний диаметр использованных НЧ CuO составил 21 ± 4 нм.

Fig. 2. а – The CuO NPs in suspension (electron microscopy, × 100,000 magnification); б – the nanoparticle diameter distribution graph (the average diameter of the used CuO NPs was 21 ± 4 nm).

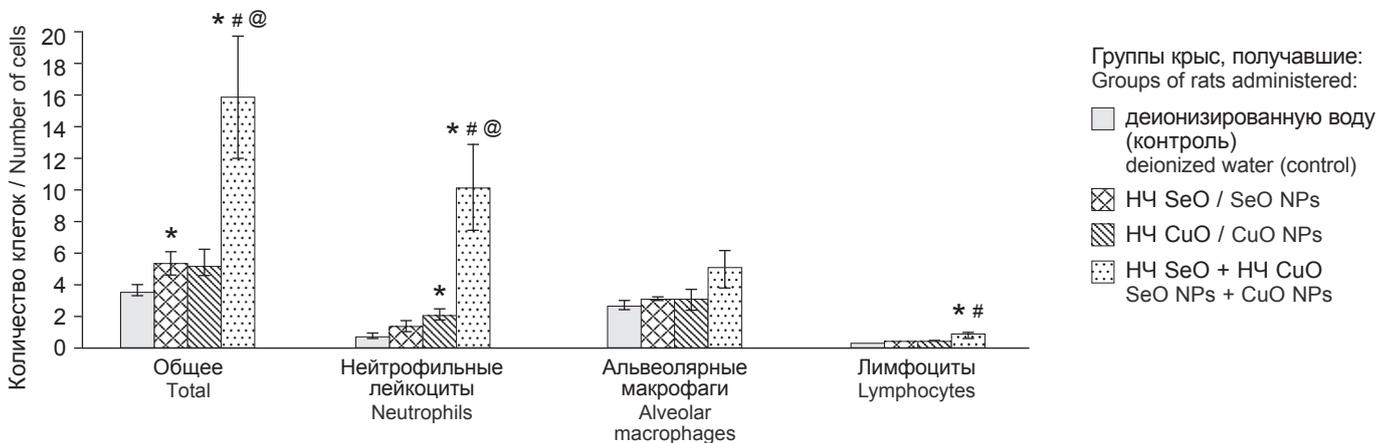


Рис. 3. Число клеток в БАЛЖ после суточной экспозиции к НЧ SeO, НЧ CuO либо их комбинации (X ± Sx). * – статистически значимые отличия от группы «Контроль», p ≤ 0,05; # – статистически значимые отличия от группы «НЧ SeO», p ≤ 0,05; @ – статистически значимые отличия от группы «НЧ CuO», p ≤ 0,05.

Fig. 3. The number of cells in BALF after 24 hours exposure to SeO NPs, CuO NPs, or their combinations (X ± Sx). Statistically different from the Control group demonstrated by *; # – statistically different from the group received SeO NP; @ – statistically different from the group received CuO NP, p ≤ 0.05).

Original article

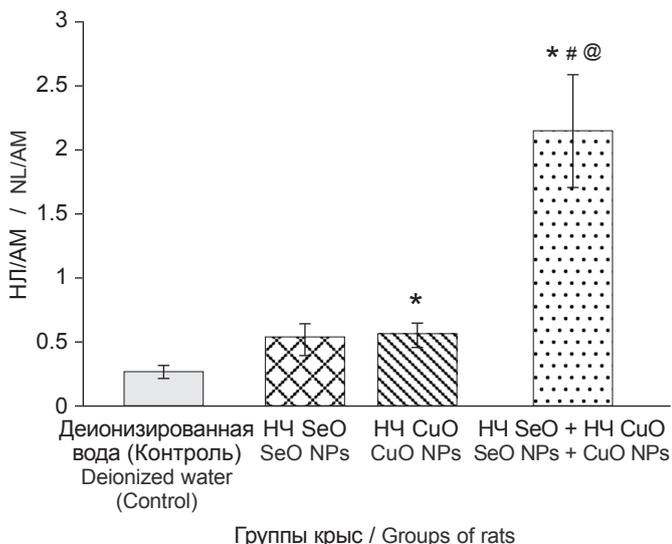


Рис. 4. Изменение соотношения НЛ/АМ после суточной экспозиции к НС SeO, НСCuO либо их комбинации (X ± Sx).

* – статистически значимые отличия от группы «Контроль», $p \leq 0,05$; # – статистически значимые отличия от группы «НС SeO», $p \leq 0,05$; @ – статистически значимые отличия от группы «НС CuO», $p \leq 0,05$.

Fig. 4. Changes of Neutrophil to alveolar macrophage ratio after 24 hours exposure to SeO NPs, CuO NPs, or their combinations (X ± Sx). Statistically different from the Control group demonstrated by *; # – statistically different from the from the group received SeO NP; @ – statistically different from the group received CuO NP, $p \leq 0,05$.

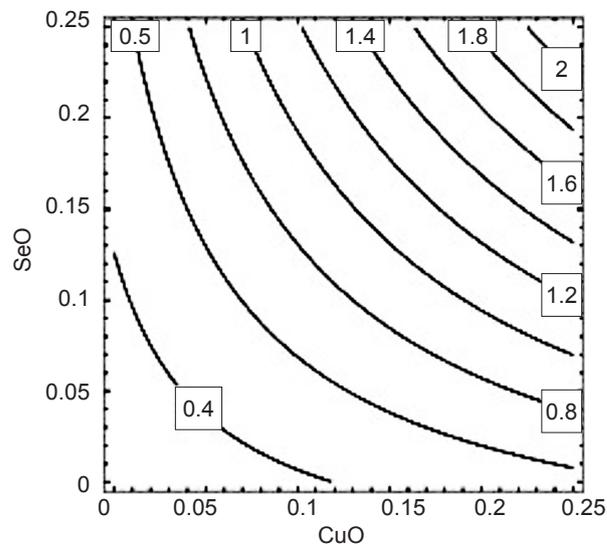


Рис. 5. Пример изоболограммы, иллюстрирующий характер комбинированного действия НС SeO и НС CuO на клеточные показатели БАЛЖ: отношение НЛ/АМ. На осях обозначены дозы НС, мг/животное; числа на изоболах обозначают величину эффекта.

Fig. 5. The isobologram demonstrating the type of the combined effect of SeO and CuO nanoparticles on cellular parameters of the bronchoalveolar lavage fluid: neutrophil to alveolar macrophage ratio. Doses of NPs on axes in mg/animal; the numbers on the isoboles indicate the magnitude of the effect.

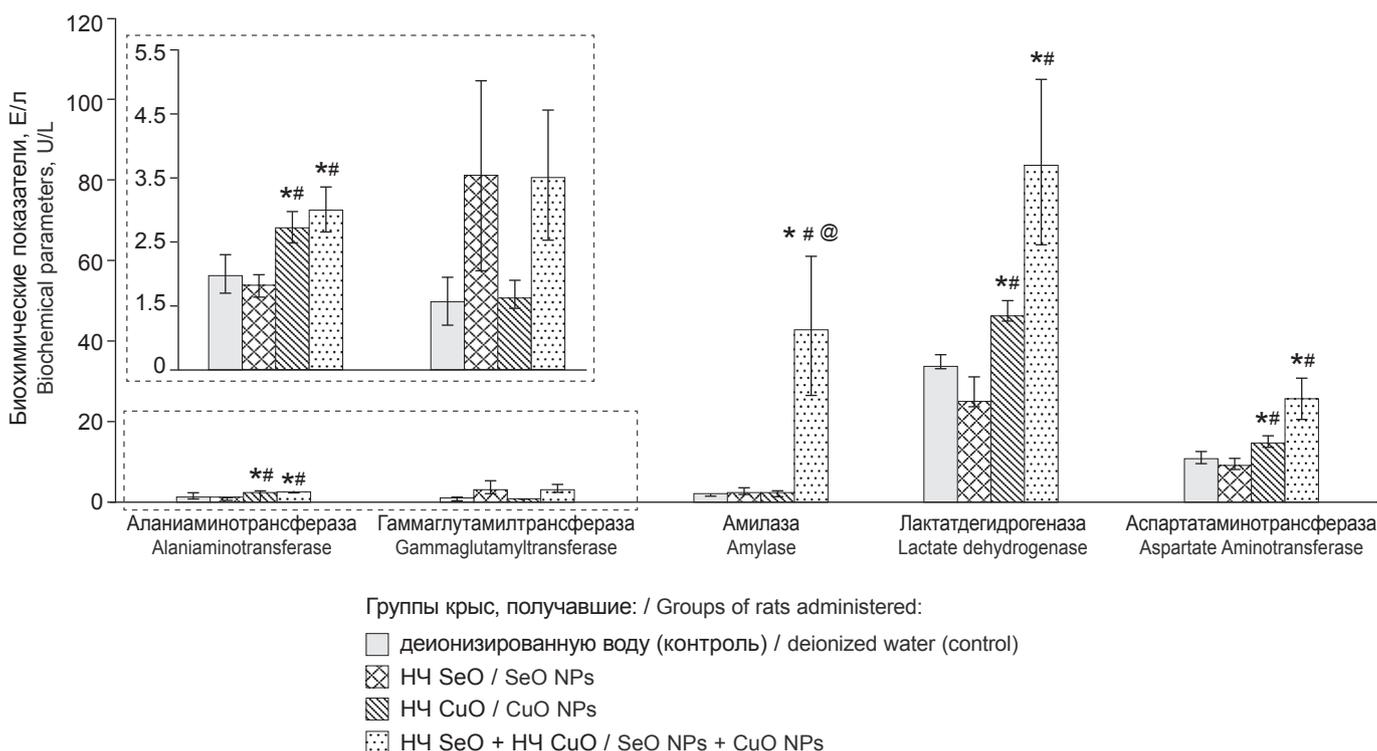


Рис. 6. Биохимические показатели надосадочной жидкости, полученной при БАЛ после суточной экспозиции к НС SeO, НС CuO либо их комбинации (X ± Sx).

* – статистически значимые отличия от группы «Контроль», $p \leq 0,05$; # – статистически значимые отличия от группы «НС SeO», $p \leq 0,05$; @ – статистически значимые отличия от группы «НС CuO», $p \leq 0,05$.

Fig. 6. Biochemical parameters of the bronchoalveolar lavage fluid obtained after 24 hours exposure to SeO NPs, CuO NPs, or their combinations (X ± Sx). Statistically different from the Control group demonstrated by *; # – statistically different from the group received SeO NP; @ – statistically different from the group received CuO NP, $p \leq 0,05$.

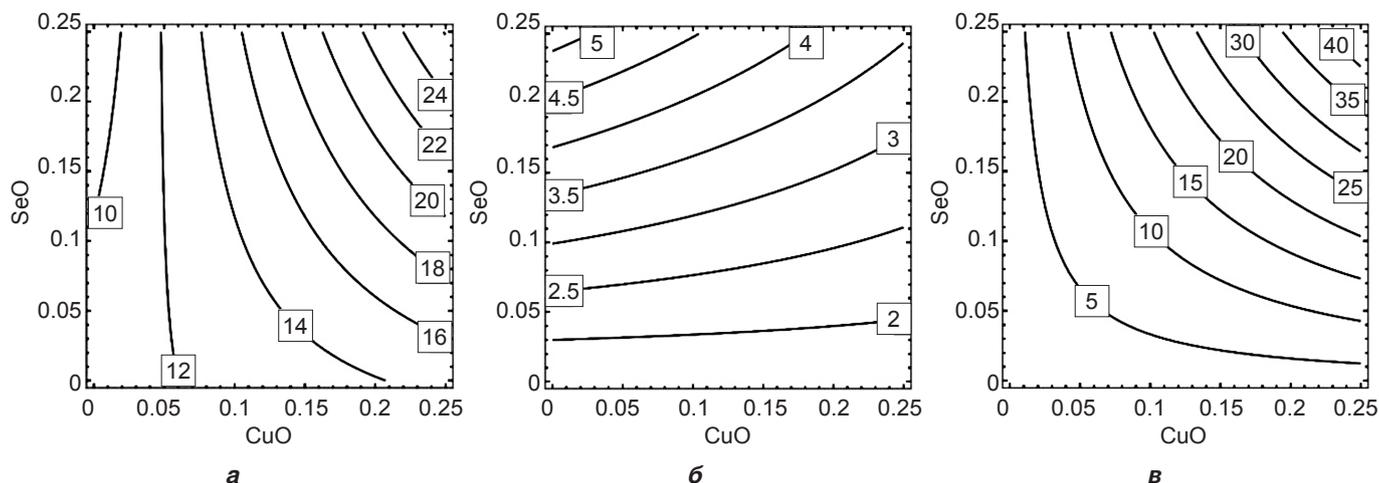


Рис. 7. Изоболограммы, иллюстрирующие неоднозначность комбинированного действия НЧ SeO и НЧ CuO на биохимические показатели надосадочной жидкости БАЛ: *а* – активность АСТ; *б* – активность ГГТП; *в* – активность амилазы. На осях обозначены дозы НЧ, мг/животное; числа на изоболах обозначают величину эффекта.

Fig. 7. Isobolograms illustrating a controversial effect of the combined exposure to SeO and CuO nanoparticles on biochemical parameters of the bronchoalveolar lavage fluid: *a* – AST activity; *b* – GGTP activity; *v* – amylase activity. Doses of NPs on axes in mg/animal; the numbers on the isoboles indicate the magnitude of the effect.

Результат позволил нам предположить суперрадикальный характер комбинированной токсичности для всех показателей клеточного состава жидкости БАЛ. Анализ изоболограмм, полученных с помощью построения поверхности отклика (RSM-анализ), подтвердил наше предположение, выявив суперрадикальный характер комбинированного действия НЧ SeO и НЧ CuO во всех случаях по показателям клеточного состава жидкости БАЛ. Отметим, что характер комбинированного действия переходит в аддитивность при больших дозах обоих веществ (рис. 5).

На рис. 6 отражены биохимические изменения показателей надосадочной бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс, подвергшихся острому воздействию НЧ SeO и (или) НЧ CuO. При интратрахеальном введении НЧ SeO не вызвали изменений биохимических показателей надосадочной жидкости БАЛЖ, в то время как под воздействием НЧ CuO статистически значимо в сравнении с контролем повысилась активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ).

При комбинированном интратрахеальном введении наночастиц оксидов селена и меди наблюдалось статистически значимое в сравнении с контролем увеличение активности практически всех изученных нами ферментов за исключением гамма-глутамилтрансферазы (ГГТП): АСТ, АЛТ, амилаза, ЛДГ.

Исходя из вышесказанного, мы предлагаем оценивать суперрадикальный характер комбинированного токсического действия по большему числу биохимических показателей.

RSM-анализ выявил неоднозначность характера комбинированного токсического действия по рассматриваемым показателям.

Противоположное действие низких доз токсикантов, переходящее в практически однофакторное действие меди и далее в аддитивное действие при высоких дозах обоих токсикантов через суперрадикальность, наблюдалось нами для активности АЛТ, АСТ и ЛДГ. В качестве примера приведена изоболограмма, иллюстрирующая комбинированное воздействие по показателю активности АСТ (рис. 7, *а*). Практически однофакторное действие НЧ

SeO наблюдалось для воздействия на активность ГГТП (рис. 7, *б*). Суперрадикальный характер комбинированного действия, переходящий в аддитивность при высоких дозах обоих веществ, показан для воздействия на активность амилазы (рис. 7, *в*).

Изменения показателей, характеризующих фагоцитоз НЛ и АМ, отражены на рис. 8. Интратрахеальное введение суспензии НЧ CuO не вызвало статистически значимых в сравнении с контролем изменений показателей активности либо индекса фагоцитоза НЛ и АМ. При интратрахеальном введении суспензии НЧ SeO наблюдали увеличение процента АМ, вступивших в фагоцитоз, от общего их числа и увеличение среднего числа частиц латекса, поглощённых одним АМ.

При комбинированном интратрахеальном введении наночастиц оксидов селена и меди наблюдали резкое увеличение процента НЛ, вступивших в фагоцитоз, от общего их числа и рост среднего числа частиц латекса, поглощённых одним НЛ.

Исходя из полученных результатов, мы предполагаем противонаправленное действие НЧ SeO и НЧ CuO на активность и индекс фагоцитоза АМ и аддитивное действие на активность и индекс фагоцитоза НЛ.

По результатам RSM-анализа комбинированное действие НЧ SeO и НЧ CuO на активность и интенсивность фагоцитоза АМ действительно является противонаправленным, но только при высокой дозе НЧ SeO и низкой дозе НЧ CuO. С увеличением дозы НЧ CuO характер комбинированного действия меняется, и мы можем предположить переход к однонаправленности. В качестве примера приведена изоболограмма, иллюстрирующая комбинированное воздействие по показателю активности фагоцитоза АМ (рис. 9, *а*). Комбинированное действие НЧ SeO и НЧ CuO на активность и интенсивность фагоцитоза НЛ действительно является аддитивным при высоких дозах обоих токсикантов и суперрадикальным при низких. В качестве примера приведена изоболограмма, иллюстрирующая комбинированное воздействие по показателю активности фагоцитоза НЛ (рис. 9, *б*).

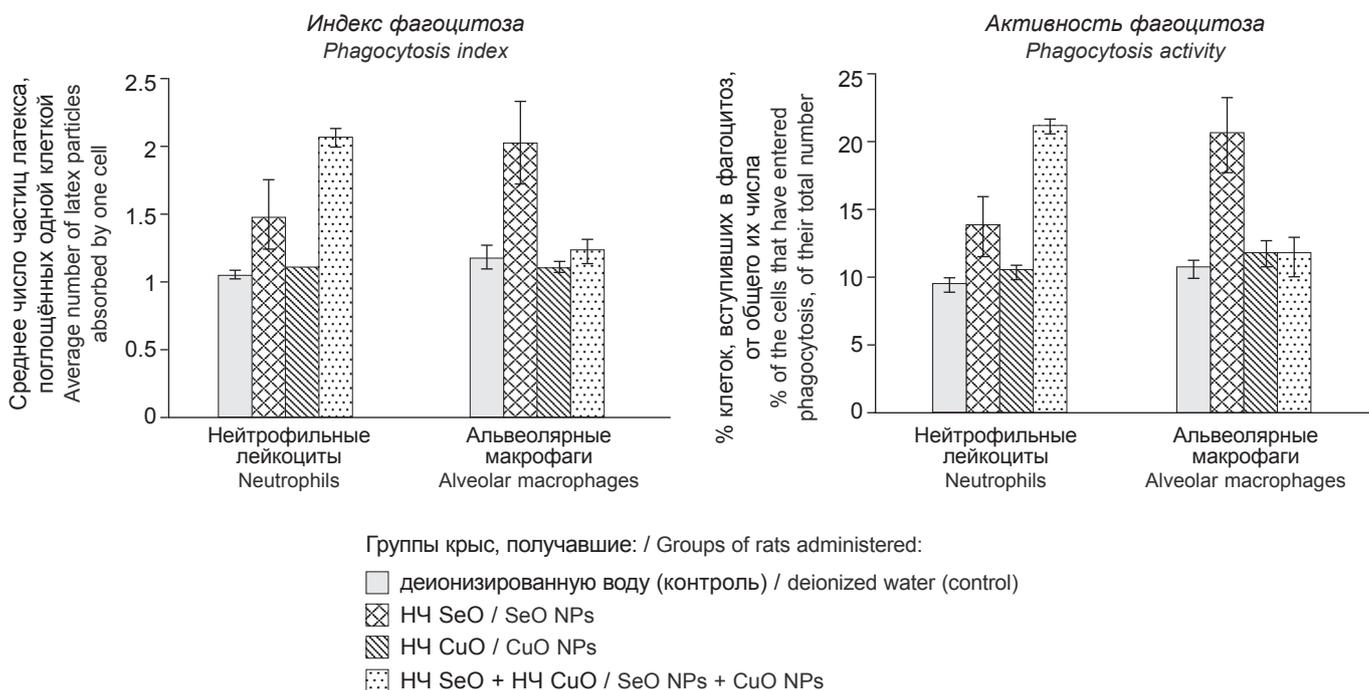


Рис. 8. Показатели фагоцитоза НЛ и АМ после суточной экспозиции к НЧ SeO, НЧ CuO либо их комбинации ($X \pm Sx$). * – статистически значимые отличия от группы «Контроль», $p \leq 0,05$; # – статистически значимые отличия от группы «НЧ SeO», $p \leq 0,05$; @ – статистически значимые отличия от группы «НЧ CuO», $p \leq 0,05$.

Fig. 8. Indicators of phagocytosis of neutrophils and alveolar macrophages established in BALF after 24 hours exposure to SeO NPs, CuO NPs, or their combinations ($X \pm Sx$). Statistically different from the Control group demonstrated by *; # – statistically different from the from the group received SeO NP; @ – statistically different from the group received CuO NP, $p \leq 0.05$).

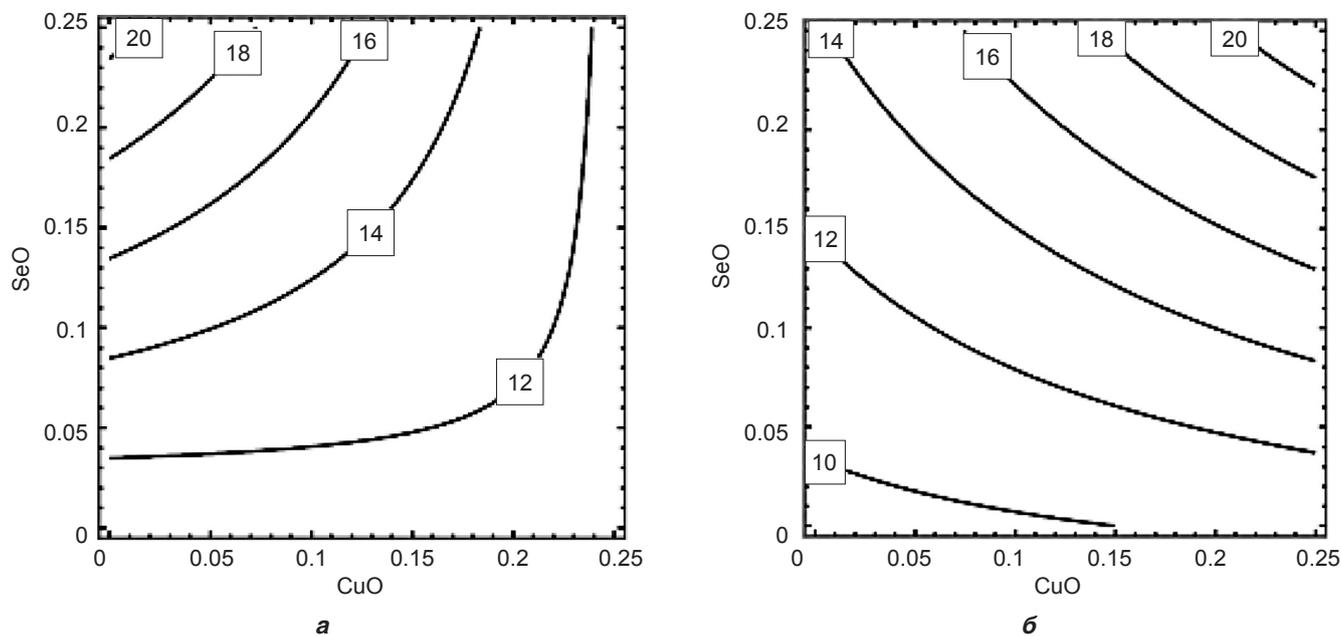


Рис. 9. Изоболограммы, иллюстрирующие неоднозначность комбинированного действия НЧ SeO и НЧ CuO на биохимические показатели надосадочной жидкости БАЛ: а – активность фагоцитоза АМ; б – активность фагоцитоза НЛ. На осях обозначены дозы НЧ, мг/животное; числа на изоболах обозначают величину эффекта.

Fig. 9. Isobolograms illustrating a controversial effect of the combined exposure to SeO and CuO nanoparticles on biochemical parameters of the bronchoalveolar lavage fluid: а – phagocytic activity of alveolar macrophages; б – phagocytic activity of neutrophils. Doses of NPs on axes in mg/animal; the numbers on the isoboles indicate the magnitude of the effect.

Обсуждение

Реакция на изолированное интратрахеальное введение НЧ CuO превышает реакцию на введение НЧ SeO, о чём можно судить по преобладающей мобилизации НЛ в группе животных «НЧ CuO» (см. рис. 3) и соответственно по изменению отношения НЛ/АМ (см. рис. 4). В то же время реакция на комбинированное воздействие НЧ SeO и НЧ CuO является более выраженной, нежели на изолированное воздействие какой-либо из этих частиц. Это свидетельствует о более высокой цитотоксичности комбинации НЧ SeO и НЧ CuO, поскольку отношение НЛ/АМ является хотя и косвенным, но информативным показателем цитотоксического действия частиц [22–26].

Изменения биохимических показателей в надосадочной жидкости БАЛ свидетельствуют о большей токсичности для лёгких НЧ CuO по сравнению с НЧ SeO, что подтверждается статистически значимым повышением активности АЛТ и АСТ в сравнении с группой «НЧ SeO» и повышением активности ЛДГ в сравнении с группами «НЧ SeO» и «Контроль». Однако наибольшее токсическое действие на лёгкие оказывает комбинация изученных НЧ (см. рис. 6). Наблюдаемое после воздействия пылевых частиц повышение активности ферментов может быть объяснено их выбросом в цитоплазму, а затем во внеклеточную жидкость, произошедшим в результате повреждения фаголизосом макрофагов и эпителиальных клеток. Известно, что контакт лёгочной ткани с НЧ размером около 50 нм способен приводить к перфорации мембран альвеолярных клеток I типа и последующему проникновению НЧ внутрь таких клеток. Это в свою очередь вызывает некроз клеток [27]. В результате повреждения фаголизосом макрофагов и эпителиальных клеток происходит выброс клеточных ферментов в цитоплазму, а затем во внеклеточную жидкость. Другой причиной обнаруженных сдвигов помимо цитотоксического действия НЧ могли стать воспалительные процессы ткани лёгких, индуцированные медью [28, 29]. В пользу последнего свидетельствует рост числа лимфоцитов (см. рис. 3). Выраженные изменения в группе комбинированного воздействия были следствием преимущественно аддитивного действия НЧ SeO и НЧ CuO.

Вводимые интратрахеально НЧ SeO в большей степени, нежели НЧ CuO, влияют на фагоцитарную способность клеток. В частности, они активируют АМ (см. рис. 8). Ввиду

отсутствия каких-либо биохимических изменений в группе «НЧ SeO» (см. рис. 6) такой результат может говорить о начальных проявлениях цитотоксического действия. На момент забора жидкости БАЛ уже произошло увеличение общей клеточности за счёт некоторой мобилизации АМ и НЛ, о чём свидетельствует возросшее отношение НЛ/АМ (см. рис. 4). Клетки, преимущественно АМ, поглощали отложенные в дыхательных путях частицы, что подтверждается ростом активности и индекса фагоцитоза (см. рис. 8). При этом они ещё не были повреждены под воздействием НЧ и не были разрушены, поскольку биохимические показатели надосадочной жидкости БАЛ статистически не отличались от соответствующих контрольных значений (см. рис. 6). При комбинированном воздействии НЧ SeO и НЧ CuO мы наблюдали рост активности и индекса фагоцитоза НЛ. Полученный результат соответствует картине развивающегося цитотоксического действия: уже произошла активизация и мобилизация НЛ в ответ на продукты разрушения АМ (см. рис. 3, 4). Продукты разрушения клеток определяются в надосадочной жидкости БАЛ (см. рис. 6).

Приведённая в статье оценка цитотоксического комбинированного действия наночастиц оксидов селена и меди в остром эксперименте на крысах была ограничена изучением основных показателей цитотоксического действия в одном экспериментальном исследовании. Кроме того, нами было использовано хотя и достаточное, но сравнительно небольшое число особей в каждой группе (по 10 крыс).

Заключение

Математический анализ, основанный на модели поверхности отклика, показал, что комбинированное цитотоксическое действие наночастиц оксидов селена и меди характеризуется типологическим разнообразием. Однако по подавляющему числу изученных показателей (в том числе по соотношению НЛ/АМ, активности АСТ и амилазы, активности фагоцитоза НЛ) продемонстрирован аддитивный характер комбинированного действия высоких доз НЧ SeO и НЧ CuO, когда исследованные вещества усиливали токсическое действие друг друга. Последнее необходимо учитывать при оценке многофакторного риска для здоровья рабочих во избежание занижения реальной оценки суммарного риска, в частности в химико-металлургических и шламовых цехах медеплавильных предприятий.

Литература

(п.п. 6–19, 22–28 см. References)

1. Набойченко С.С., ред. *Производство селена и теллура на ОАО «Уралэлектромедь»*. Екатеринбург; 2015.
2. Ляпишев Ю.Б. Современное состояние переработки электролитных шламов медного производства. *Записки Горного института*. 2006; (2): 245–7.
3. Мадарь И.И. *Гидрометаллургическое извлечение селена из продуктов экстракционной переработки промывной кислоты медного производства*: Автореф. дисс. ... канд. тех. наук. СПб.; 2015.
4. Гурвич В.Б., Кацнельсон Б.А., Рузаков В.О., Привалова Л.И., Бушуева Т.В. Биохимические эффекты у рабочих, подвергающихся влиянию аэрозолей металлургического производства меди, содержащих наночастицы. В кн.: *Материалы международной конференции «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения»*. Екатеринбург; 2016: 21–3.
5. Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А., Логинова Н.В., Гурвич В.Б., Шур В.Я., Бейкин Я.Б. и др. Цитологические и биохимические особенности жидкости, получаемой при бронхо-альвеолярном лаваже у крыс после интратрахеального введения наноразмерных меднооксидных частиц. *Токсикологический вестник*. 2014; (5): 8–15.
20. Сутункова М.П., Привалова Л.И., Рябова Ю.В., Минигалиева И.А., Тажигулова А.В., Лабзова А.К. и др. Сравнительная оценка реакции глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов селена или меди. *Токсикологический вестник*. 2021; 29(6): 39–46. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-6-39-46>
21. Лебедев К.А., Понякина И.Д. *Иммунограмма в клинической практике: Введение в прикладную иммунологию*. М.: Наука; 1990.

References

1. Naboychenko C.S., ed. *Selenium and Tellurium Production at Uralelectromed OJSC [Производство селена и теллура на ОАО «Уралэлектромедь»: учебное пособие]*. Ekaterinburg; 2015. (in Russian)
2. Lyapishchev Yu.B. Up-to-date processing of electrolytic copper refinery slimes. *Zapiski Gornogo instituta*. 2006; (2): 245–7. (in Russian)
3. Madar' I.I. *Hydrometallurgical extraction of selenium from products of extraction processing of washing acid of copper production*: Diss. St. Petersburg; 2015. (in Russian)
4. Gurvich V.B., Katsnel'son B.A., Ruzakov V.O., Privalova L.I., Bushueva T.V. Biochemical effects in workers exposed to copper refinery nanoparticle-containing aerosols. In: *Proceedings of the International Conference «Topics of Current Hygienic Importance in Nanotoxicology: Theoretical Premises, Hazards Identification and Ways of Their Attenuation» [Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения: Материалы международной конференции]*. Yekaterinburg; 2016: 21–3. (in Russian)
5. Privalova L.I., Katsnel'son B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Ya., Beykin Ya.B., et al. Cytological and biochemical characteristics of bronchoalveolar lavage fluid in rats after intratracheal instillation of copper oxide nano-scale particles. *Toksikologicheskij vestnik*. 2014; (5): 8–15. (in Russian)

Original article

6. Wu Y., Wang M., Luo S., Gu Y., Nie D., Xu Z., et al. Comparative toxic effects of manufactured nanoparticles and atmospheric particulate matter in human lung epithelial cells. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 18(1): 22. <https://doi.org/10.3390/ijerph18010022>
7. Lin W., Huang Y.W., Zhou X.D., Ma Y. *In vitro* toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2006; 217(3): 252–9. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2006.10.004>
8. Liu N., Guan Y., Zhou C., Wang Y., Ma Z., Yao S. Pulmonary and systemic toxicity in a rat model of pulmonary alveolar proteinosis induced by indium-tin oxide nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine*. 2022; 17: 713–31. <https://doi.org/10.2147/IJN.S338955>
9. Guo C., Robertson S., Weber R.J.M., Buckley A., Warren J., Hodgson A., et al. Pulmonary toxicity of inhaled nano-sized cerium oxide aerosols in Sprague-Dawley rats. *Nanotoxicol.* 2019; 13(6): 733–50. <https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1554751>
10. He H., Zou Z., Wang B., Xu G., Chen C., Qin X., et al. Copper oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and cell death via copper ion-mediated P38 MAPK activation in vascular endothelial cells. *Int. J. Nanomedicine*. 2020; 15: 3291–302. <https://doi.org/10.2147/IJN.S241157>
11. Alizadeh S.R., Ebrahimzadeh M.A. Characterization and anticancer activities of green synthesized CuO nanoparticles, a review. *Anticancer Agents Med. Chem.* 2021; 21(12): 1529–43. <https://doi.org/10.2174/1871520620666201029111532>
12. Zou L., Cheng G., Xu C., Liu H., Wang Y., Li N., et al. Copper nanoparticles induce oxidative stress via the heme oxygenase 1 signaling pathway *in vitro* studies. *Int. J. Nanomedicine*. 2021; 16: 1565–73. <https://doi.org/10.2147/IJN.S292319>
13. Zheng Z., Liu L., Zhou K., Ding L., Zeng J., Zhang W. Anti-oxidant and anti-endothelial dysfunctional properties of nano-selenium *in vitro* and *in vivo* of hyperhomocysteinemic rats. *Int. J. Nanomedicine*. 2020; 15: 4501–21. <https://doi.org/10.2147/IJN.S255392>
14. Pi J., Yang F., Jin H., Huang X., Liu R., Yang P., et al. Selenium nanoparticles induced membrane bio-mechanical property changes in MCF-7 cells by disturbing membrane molecules and F-actin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013; 23(23): 6296–303. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.09.078>
15. Huang G., Liu Z., He L., Luk K.H., Cheung S.T., Wong K.H., et al. Autophagy is an important action mode for functionalized selenium nanoparticles to exhibit anti-colorectal cancer activity. *Biomater. Sci.* 2018; 6(9): 2508–17. <https://doi.org/10.1039/c8bm00670a>
16. Martínez-Esquivias F., Gutiérrez-Angulo M., Pérez-Larios A., Sánchez-Burgos J., Becerra-Ruiz J., Guzmán-Flores J.M. Anticancer activity of selenium nanoparticles *in vitro* studies. *Anticancer Agents Med. Chem.* 2021; 22(9): 1658–73. <https://doi.org/10.2174/1871520621666210910084216>
17. Kondaparthi P., Flora S.J.S., Naqvi S. Selenium nanoparticles: An insight on its pro-oxidant and antioxidant properties. *Front. Nanosci. Nanotechnol.* 2019; 6: 1–5. <https://doi.org/10.15761/FNN.1000189>
18. Zhuang Y., Li L., Feng L., Wang S., Su H., Liu H., et al. Mitochondrion-targeted selenium nanoparticles enhance reactive oxygen species-mediated cell death. *Nanoscale*. 2020; 12(3): 1389–96. <https://doi.org/10.1039/c9nr09039h>
19. 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. *Toxicol.* 2017; 380: 72–93. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.02.007>
20. Sutunkova M.P., Privalova L.I., Ryabova Yu.V., Minigalieva I.A., Tazhigulova A.V., Labzova A.K., et al. Comparative assessment of the pulmonary effect in rats to a single intratracheal administration of selenium or copper oxide nanoparticles. *Toksikologicheskii vestnik*. 2021; 29(6): 39–46. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-6-39-46> (in Russian)
21. Lebedev K.A., Ponyakina I.D. *Immunogram in Clinical Practice: Introduction to Applied Immunology [Immunogramma v klinicheskoy praktike: Vvedenie v prikladnuyu immunologiyu]*. Moscow: Nauka; 1990. (in Russian)
22. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Osipenko A.B., Yushkov B.N., Babushkina L.G. Response of a phagocyte cell system to products of macrophage breakdown as a probable mechanism of alveolar phagocytosis adaptation to deposition of particles of different cytotoxicity. *Environ. Health Perspect.* 1980; 35: 205–18. <https://doi.org/10.1289/ehp.8035205>
23. Katsnelson B.A., Privalova L.I. Recruitment of phagocytizing cells into the respiratory tract as a response to the cytotoxic action of deposited particles. *Environ. Health Perspect.* 1984; 55: 313–25. <https://doi.org/10.1289/ehp.8455313>
24. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Yelnichnykh L.N. Some peculiarities of the pulmonary phagocytotic response: dust retention kinetics and silicosis development during long term exposure of rats to high quartz levels. *Br. J. Ind. Med.* 1987; 44(4): 228–35. <https://doi.org/10.1136/oem.44.4.228>
25. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sharapova N.Y., Kisliitsina N.S. On the relationship between activation and breakdown of macrophages in the pathogenesis of silicosis (an overview). *Med. Lav.* 1995; 86(6): 511–21.
26. Ruenraroengsak P., Novak P., Berhanu D., Thorley A.J., Valsami-Jones E., Gorelik J., et al. Respiratory epithelial cytotoxicity and membrane damage (holes) caused by amine-modified nanoparticles. *Nanotoxicol.* 2012; 6(1): 94–108. <https://doi.org/10.3109/17435390.2011.558643>
27. Cho W.S., Duffin R., Poland C.A., Duschl A., Oostingh G.J., Macnee W., et al. Differential pro-inflammatory effects of metal oxide nanoparticles and their soluble ions *in vitro* and *in vivo*; zinc and copper nanoparticles, but not their ions, recruit eosinophils to the lungs. *Nanotoxicol.* 2012; 6(1): 22–35. <https://doi.org/10.3109/17435390.2011.552810>
28. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E., et al. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15(7): 12379–406. <https://doi.org/10.3390/ijms150712379>