

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Минигалиева И.А.¹, Рябова Ю.В.¹, Сутункова М.П.¹, Гурвич В.Б.¹, Привалова Л.И.¹, Панов В.Г.²,
Тажигулова А.В.¹, Соловьева С.Н.¹, Сутункова Ю.М.¹, Кацнельсон Б.А.¹

Изучение комбинированного действия наночастиц оксидов селена и меди в субхроническом эксперименте на крысах

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский – научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация;

²ФГБУН «Институт промышленной экологии» Уральского отделения Российской академии наук, 620108, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Введение. Экспозиция организма к наночастицам оксида селена, связанная с условиями труда, может сочетаться с экспозициями к наночастицам оксида меди. Характер такого комбинированного действия на организм ранее не изучался.

Материал и методы. Стабильные суспензии наночастиц оксида селена и меди (при разовой дозе 1 либо 2 мг/кг массы тела) или деионизированная вода (контроль) вводились крысам-самцам 3 раза в 1 нед в течение 6 нед. По завершении экспозиции состояние организма животных оценивалось по ряду общепризнанных критериев оценки токсического действия. Статистическая значимость межгрупповых различий средних значений оценивалась с помощью *t*-критерия Стьюдента. Для анализа закономерностей двухфакторной комбинированной токсичности использовали метод построения поверхности отклика (RSM-анализ).

Результаты. При комбинированной интоксикации наночастицами оксидов селена и меди наблюдалось повреждение печени, исходя из снижения альбумино-глобулинового индекса и содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови, увеличения числа дегенеративно изменённых гепатоцитов. О нарушении функции почек свидетельствуют снижение уровня мочевины и мочевой кислоты в моче, креатинина в сыворотке крови, увеличение дегенеративно изменённых клеток дистальных и проксимальных канальцев почек. Анализ изоболограмм, полученных с помощью построения поверхности отклика, выявил неоднозначность типа комбинированного действия наночастиц оксидов селена в зависимости от того, по какому эффекту и на каком уровне доз он оценивается.

Заключение. Субхроническая токсичность наночастиц оксидов селена и меди характеризуется качественно сходными вредными эффектами. При этом комбинированное действие этих наночастиц на организм является типологически неоднозначным, варьируя от противонаправленности до синергизма.

Ключевые слова: наночастицы; оксид селена; оксид меди; комбинированное действие; изоболы; метод поверхности отклика

Соблюдение этических стандартов. Исследование выполнено в соответствии с «International guiding principles for biomedical research involving animals» (the Council for International Organizations of Medical Sciences, the International Council For Laboratory Animal Science, 2012). Работа одобрена Локальным независимым этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

Для цитирования: Минигалиева И.А., Рябова Ю.В., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Привалова Л.И., Панов В.Г., Тажигулова А.В., Соловьева С.Н., Сутункова Ю.М., Кацнельсон Б.А. Изучение комбинированного действия наночастиц оксида селена и меди в субхроническом эксперименте. *Токсикологический вестник*. 2022; 30(4): 238-247. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-4-238-247>

Для корреспонденции: Минигалиева Ильзира Амировна, зав. отделом токсикологии и биофилактики, ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

Участие авторов: Кацнельсон Б.А., Гурвич В.Б., Минигалиева И.А., Привалова Л.И. – концепция и дизайн исследования; Рябова Ю.В. – концепция и дизайн исследования, проведение эксперимента, сбор и обработка материала; Панов В.Г. – сбор и обработка материала. Все соавторы – обсуждение результатов, редактирование статьи, утверждение окончательного варианта статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность. Исследование проведено за счёт бюджета ЕМНЦ ПОЗРПП.

Поступила в редакцию: 05.05.2022 / Принята в печать: 21.07.2022 / Опубликована: 30.08.2022

Minigalieva I.A.¹, Ryabova Yu.V.¹, Sutunkova M.P.¹, Gurvich V.B.¹, Privalova L.I.¹, Panov V.G.², Tazhigulova A.V.¹, Solovieva S.N.¹, Sutunkova Yu.M.¹, Katsnelson B.A.¹

Study of the selenium oxide and copper oxide nanoparticles combined action in a subchronic experiment on rats

¹The Yekaterinburg Medical and Scientific Center for Prevention and Health Protection of Industrial Workers of Rospotrebnadzor, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation;

²The Institute of Industrial Ecology, the Urals Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, 620108, Russian Federation

Introduction. Exposure to selenium oxide nanoparticles can be combined with exposure to copper oxide nanoparticles at working place. The type of this combined action has not been previously studied.

Material and methods. Stable suspensions of selenium oxide and copper oxide nanoparticles (at a single dose of 1 or 2 mg/kg of body weight) or deionized water (control) were administered to male rats 3 times a week for 6 weeks. At the end of the exposure, the toxic effect was evaluated by a large number of the animal organism indices. The statistical significance of intergroup differences was assessed using Student's *t*-test. To analyze the patterns of two-factor combined toxicity, we used the Response Surface Methodology (RSM analysis).

Results. Under combined intoxication with selenium oxide and copper oxide nanoparticles, liver damage was observed, assessed by a decrease in the albumin-globulin index and the content of alkaline phosphatase in the blood serum, an increase in the number of degenerated hepatocytes. Kidney function altered as indicated by a decrease in the level of urea and uric acid in the urine, creatinine in the blood serum, an increase in degenerated cells of proximal and distal tubules. The analysis of isobolograms obtained by RSM revealed the ambiguity of the type of selenium oxide and copper oxide nanoparticles combined action, depending on which effect and at which dose level it is estimated by.

Conclusion. The subchronic toxicity of selenium oxide and copper oxide nanoparticles is characterized by qualitatively similar harmful effects. At the same time, the combined action of these nanoparticles is typologically ambiguous, varying from contradirectionality to synergism.

Keywords: nanoparticles; selenium oxide; copper oxide; combined action; isoboles; response surface method

Compliance with ethical standards. The study was carried out in accordance with the "International guiding principles for biomedical research involving animals" (the Council for International Organizations of Medical Sciences, the International Council For Laboratory Animal Science, 2012). The work was approved by the Local Independent Ethics Committee of the Federal State Budgetary Institution EMNC POSRPP of Rospotrebnadzor.

For citation: Minigalieva I.A., Ryabova Yu.V., Privalova L.I., Gurvich V.B., Panov V.G., Klinova S.V., Katsnelson B.A. Study of the selenium oxide and copper oxide nanoparticles combined action in a subchronic experiment on rats. *Toxicologicheskij vestnik (Toxicological Review)*. 2022; 30(4): 238-247. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-4-238-247> (In Russian)

For correspondence: Minigalieva Ilzira, Head of the Department of Toxicology and Bioprophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, 620014, Yekaterinburg, Russian Federation. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

Information about the authors:

Minigalieva I.A., <https://orcid.org/0000-0002-0097-7845>
Sutunkova M.P., <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642>
Privalova L.I., <https://orcid.org/0000-0002-1442-6737>
Katsnelson B.A., <https://orcid.org/0000-0001-8750-9624>

Ryabova Yu.V., <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479>
Gurvich V.B., <https://orcid.org/0000-0002-6475-7753>
Panov V.G., <https://orcid.org/0000-0001-6718-3217>

Autors contribution: Katsnelson B.A., Gurvich V.B., Minigalieva I.A., Privalova L.I., Ryabova Yu.V. – the concept and design of the study; Klinova S.V., Ryabova Yu.V. – conducting experiments; Panov V.G., Sakhautdinova R.R., Ryabova Yu.V. – data obtaining and processing. All co-authors – discussing the draft paper, editing, and approving the final version of the article.

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

Acknowledgments. Funded by the budget of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers.

Введение

Селен (Se) и его соединения широко используются в различных отраслях человеческой деятельности: при производстве стекла и керамики, в электронике и оптоэлектронике, химической и металлургической промышленности, медицине [1–3]. Селен не имеет собственных месторождений, является типичным представителем группы редких и рассеянных элементов [2], однако содержится во многих природных сульфидных минералах [4], включая медные. Основными (на 90%) промышленными источниками Se служат шламы, образующиеся при электролитическом рафинировании анодной меди. Мировые извлекаемые запасы Se, при учете только «медных» месторождений, оцениваются в 80–90 тыс. тонн в год [2, 5].

Известно, что пирометаллургические процессы, связанные с эффектами дезинтеграции и конденсации материалов, сопровождаются образованием аэрозолей сложного состава [6]. В их дисперсном составе преобладают частицы, значительная часть которых может быть отнесена к частицам нанометрового диапазона [6, 7]. Как данные литературы, так и экспериментальные исследования нашего коллектива свидетельствуют о том, что ультратонкие металлические и металло-оксидные частицы обладают выраженным вредным действием на организм.

Профессиональный контакт с селеном, медью и их соединениями, включая наноразмерные формы, встречается в металлургии – при переработке медных шламов, обжиге медного колчедана, производстве марганца, селена и теллура, в стекольном производстве, производстве керамики, резиновой

и химической промышленности, в электронике и оптоэлектронике. Контакт человека с этими наночастицами не ограничивается производственной деятельностью. Он может произойти из-за загрязнения ими окружающей среды: предприятия медеплавильной промышленности являются мощными источниками поступления во внешнюю среду пылей сложного состава.

Экспериментальное изучение и математическое моделирование комбинированного воздействия вредных факторов, характерные для конкретных производственных процессов, выступают в качестве научной основы оценки многофакторных профессиональных и экологических рисков [8]. В частности, в химико-металлургических и шламовых цехах при производстве селена из медных шламов возможно комбинированное действие на организм наночастиц (НЧ) оксидов селена и меди, о котором в известной нам научной литературе данных нет.

Материал и методы

Суспензии исследуемых НЧ были получены в Центре коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета с помощью лазерной абляции тонких листовых мишеней соответствующего материала 99,99% чистоты в стерильной деионизированной воде методом, описанным ранее [8]. Форма и размер частиц были охарактеризованы с использованием сканирующей электронной микроскопии и функции распределения частиц по диаметру. Средний диаметр использованных наночастиц оксида селена составил 51 ± 14 нм (рис. 1), оксида меди – 21 ± 4 нм (рис. 2).

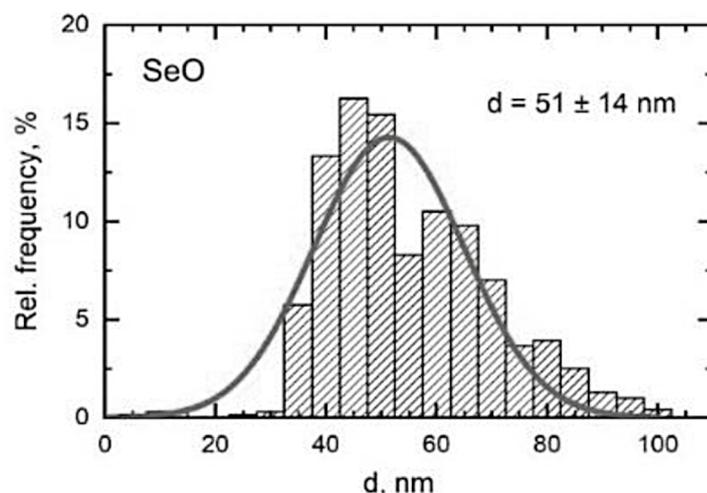
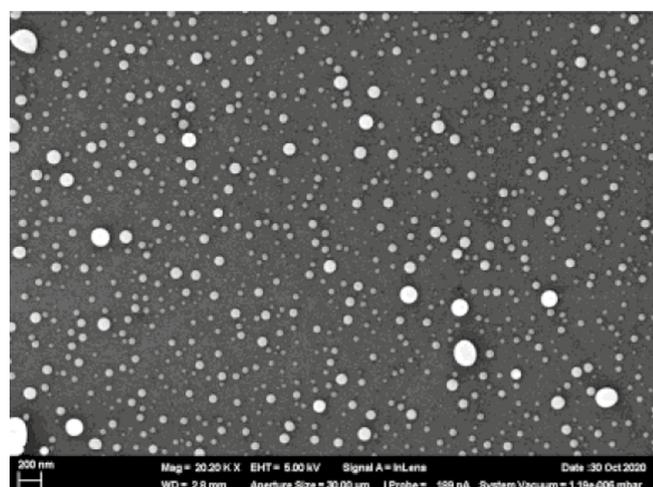


Рис. 1. СЭМ-изображение наночастиц SeO в суспензии, приготовленной для экспериментов (сканирующая электронная микроскопия с увеличением $\times 20200$) и функция распределения частиц по диаметру.

Fig. 1. The SeO NPs in suspension obtained for experiments (SEM, magnification $\times 20200$), and NP's diameter distribution function.

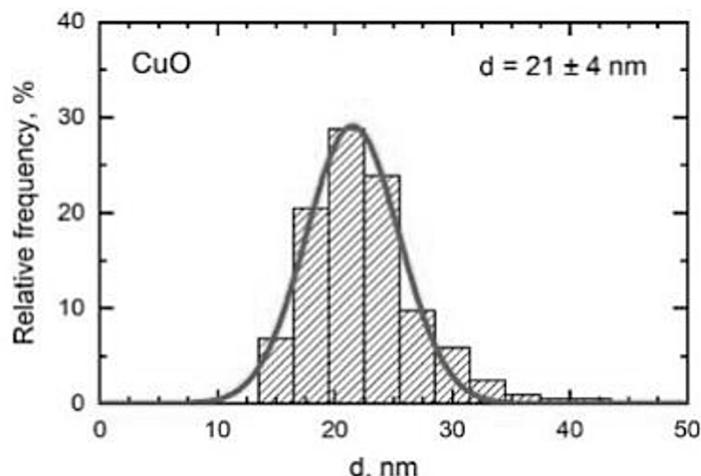
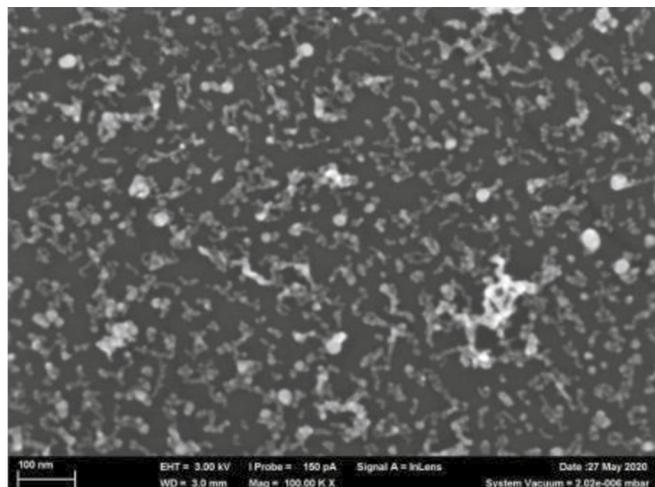


Рис. 2. СЭМ-изображение наночастиц CuO в суспензии, приготовленной для экспериментов (сканирующая электронная микроскопия с увеличением $\times 100\,000$) и функция распределения частиц по диаметру.

Fig. 2. The CuO NPs in suspension obtained for experiments (SEM, magnification $\times 100\,000$), and NP's diameter distribution function.

Стабильность суспензий характеризовалась величиной дзета-потенциала, измеренного с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK), и была высокой (дзета-потенциал вплоть до 42 mV), что позволило путём частичного испарения воды при 50 °C повысить концентрацию суспензии до 0,25 мг/л без изменения размера и химической идентичности НЧ.

Исследование проводилось на аутбредных белых крысах-самцах по 12 животных в каждой группе. Начальная масса тела животных составляла 200–270 г, средний возраст на начало эксперимента – 3–4 мес. Субхроническая интоксикация моделировалась путем повторных внутривенных инъекций 3 раза в 1 нед в течение 6 нед (всего 18 введений).

Повторные парентеральные (в частности, интраперитонеальные) инъекции токсикантов являются признанным методом экспериментального моделирования тех принципиальных особенностей и механизмов, соответствующих хронической или субхронической интоксикации, которые не связаны с реакциями, зависящими от точки приложения соответствующей «естественной» экспозиции (пероральной, ингаляционной или транскутанной). Точность дозировки и надёжная воспроизводимость являются основными преимуществами этой модели при решении количественных задач сравнительного плана.

Вводились растворы стабильных суспензий объемом 2 мл, соответствующих НЧ в разовой дозе 1 мг/кг (группа «НЧ SeO 0,25», «НЧ CuO 0,25»), либо объемом 2 мл, соответствующих НЧ в разовой дозе 2 мг/кг (группа «НЧ SeO 0,5», «НЧ CuO 0,5»), и дополнительно 2 мл стерильной де-

ионизированной воды для групп изолированного воздействия. Группы комбинированного воздействия получали 2 мл суспензии НЧ SeO и 2 мл суспензии НЧ CuO в аналогичных разовых дозах (группы «НЧ SeO 0,25 + НЧ CuO 0,5», «НЧ SeO 0,5 + НЧ CuO 0,25», «НЧ SeO 0,5 + НЧ CuO 0,5»). Контрольные животные получали 4 мл стерильной деионизированной воды.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с общепринятыми требованиями согласно документу Р 1.2.3156-13 Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека, «International guiding principles for biomedical research involving animals» (the Council for International Organizations of Medical Sciences, the International Council For Laboratory Animal Science, 2012). Работа одобрена Локальным независимым этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

По окончании эксперимента оценивали биохимические показатели сыворотки крови стандартными методиками [9, 10]. Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) оценивали цитохимически с использованием пара-нитрофиолетового тетразолия и выражали количеством гранул формазана в 50 клетках при оптической микроскопии с иммерсией [11]. Был проведен цитологический анализ тканевых отпечатков. Для этого с поперечных срезов печени, почек делались мазки-отпечатки, которые высушивались при комнатной температуре и окрашивались по Лейшману. Клеточный состав и признаки повреждения клетки оценивали с использованием светового бинокулярного микроскопа Carl Zeiss Primo Star с системой

Таблица 1 / Table 1

Показатели состояния организма крыс, подвергшихся субхроническому воздействию разных доз наночастиц оксидов селена и/или меди ($x \pm Sx$)

Functional indices for the condition of rats after subchronic exposure to different doses of NP-SeO and/or NP-CuO suspensions ($x \pm Sx$)

Показатель	Контроль	НЧ SeO 0,25	НЧ SeO 0,5	НЧ CuO 0,25	НЧ CuO 0,5	НЧ SeO 0,25 + НЧ CuO 0,5	НЧ SeO 0,5 + НЧ CuO 0,25	НЧ SeO 0,5 + НЧ CuO 0,25	НЧ SeO 0,5 + НЧ CuO 0,5
Активность сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах (СДГ), число гранул формазана в 50 лимфоцитах	575,78 ± 6,10	495,14 ± 6,91 *	484,00 ± 7,14 *	507,00 ± 8,12 *	508,75 ± 7,83 * ³	529,11 ± 9,99 * ^{2,3}	500,25 ± 7,51 * ⁶	519,00 ± 9,15 * ³	
Альбумин сыворотки крови, г/л	43,35 ± 1,64	43,67 ± 1,60	42,40 ± 1,29	43,17 ± 1,18	40,63 ± 0,97	40,30 ± 0,71	44,04 ± 0,90 * ^{5,6,8}	40,07 ± 1,28	
Глобулины в сыворотке крови, г/л	15,33 ± 4,36	19,13 ± 3,40	10,61 ± 3,57	14,31 ± 3,67	17,75 ± 4,28	20,59 ± 6,22	16,43 ± 3,53	18,53 ± 4,01	
Альбумино- глобулиновый индекс	1,90 ± 0,08	1,75 ± 0,12	1,98 ± 0,09	1,76 ± 0,09 ⁴	1,47 ± 0,06 * ³	1,54 ± 0,05 * ^{3,5}	1,750 ± 0,03 * ^{4,6,8}	1,45 ± 0,06 * ^{3,5}	
Щелочная фосфатаза в сыворотке крови, Е/л	199,28 ± 9,45	175,05 ± 10,08	127,76 ± 12,37 * ²	194,77 ± 19,35 * ^{3,4}	136,47 ± 13,96 * ²	155,61 ± 15,04	144,16 ± 4,39 * ^{2,5}	174,76 ± 19,84	
Креатинин в сыворотке крови, мкмоль/л	39,18 ± 1,63	37,63 ± 1,15	33,13 ± 1,35 * ²	36,99 ± 1,11 ³	38,70 ± 0,63 ³	36,37 ± 2,68	34,02 ± 1,05 * ^{2,4}	35,13 ± 1,58	
Мочевая кислота в моче, мкмоль/л	173,20 ± 9,36	223,17 ± 34,35	173,33 ± 44,33	188,00 ± 40,03	160,33 ± 6,17	163,00 ± 26,74	179,50 ± 19,50	114,00 ± 9,38 * ^{2,4,7}	
Мочевина в моче, ммоль/л	209,06 ± 25,24	247,22 ± 29,58	270,41 ± 61,87	328,89 ± 85,68	141,94 ± 14,81 ²	140,28 ± 18,46 ^{2,3}	229,30 ± 29,41 ^{4,6}	134,86 ± 9,29 * ^{2,7}	

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – обозначены величины, статистически значимо отличающиеся от соответствующей в контрольной группе ($p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента); ² – от соответствующей в группе НЧ SeO 0,25; ³ – от соответствующей в группе НЧ SeO 0,5; ⁴ – от соответствующей в группе НЧ CuO 0,25; ⁵ – от соответствующей в группе НЧ CuO 0,5; ⁶ – от соответствующей в группе НЧ SeO 0,25 + НЧ CuO 0,5; ⁷ – от соответствующей в группе НЧ SeO 0,5 + НЧ CuO 0,25; ⁸ – от соответствующей в группе НЧ SeO 0,5 + НЧ CuO 0,5; $x \pm Sx$ – общая формула чисел в таблице, отражающая среднее значение \pm ошибку среднего значения.

визуализации видеокамерой USCMOS при увеличении $\times 100$ и $\times 1000$. При микроскопировании подсчитывали по 300 клеток с каждого мазка. Статистическая значимость межгрупповых различий средних значений оценивалась с помощью t -критерия Стьюдента. Статистическая значимость межгрупповых различий средних значений оценивалась с помощью t -критерия Стьюдента.

Для анализа закономерностей двухфакторной комбинированной токсичности мы использовали метод построения поверхности отклика (the Response Surface Methodology – RSM). Теория метода RSM показывает, что даже на основе эксперимента, в котором использовались только по два уровня каждого воздействия, можно прогнозировать значение Y для любой комбинации x_1 и x_2 в пределах этих уровней [8, 12].

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены изменения показателей состояния организма крыс, подвергшихся субхроническому воздействию наночастиц оксидов селена и/или меди на разных уровнях доз.

Под воздействием наночастиц оксида меди или селена на разных уровнях доз наблюдалось существенное и статистически значимое снижение уровня сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в лимфоцитах крови, который является одним из параметров, отражающих состояние энергетических процессов в организме [13, 14]. Полученное нами снижение активности СДГ свидетельствует об изменении биохимических реакций в цикле Кребса – ключевого звена метаболизма (см. табл. 1).

При анализе изоболограмм, полученных с помощью построения поверхности отклика (RSM-анализ), тип комбинированного действия наночастиц оксидов селена и меди внутри диапазона изученных доз был неоднозначен: от субаддитивности на низких дозах через противонаправленное действие при высоких дозах одного токсиканта и низких другого до супераддитивности при сочетании высоких доз (см. рис. 3).

При комбинированной интоксикации наночастицами оксидов селена и

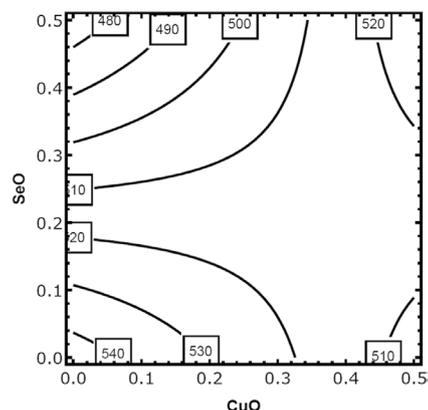


Рис. 3. Неоднозначность комбинированного субхронического действия наночастиц SeO и CuO на активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в лимфоцитах крови: от субаддитивности на низких дозах через противонаправленное действие при высоких дозах одного токсиканта и низких другого до супераддитивности при сочетании высоких доз. На осях – дозы, соответствующие MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изолах обозначают величину эффекта (количество гранул формазана в 50 лимфоцитах).

Fig. 3. Isoboles of binary combined toxicity of SeO- and CuO-NPs assessed by change in lymphocytes succinate dehydrogenase (SDH) activity: subadditivity at low doses, then contra-directional action at high doses of one toxicant and low doses of the other, then superadditivity at high doses. The concentrations of SeO- and CuO-NPs are plotted on the axes in mg/mL. The numbers at the isobole lines show the effect levels which they correspond to (number of formazane granules per 50 lymphocytes).

Рис. 4. Примеры изоболограмм, иллюстрирующие неоднозначность типа комбинированного действия селена и меди на различные показатели состояния печени: а – преимущественно однофакторное действие наночастиц CuO на изменение альбумино-глобулинового индекса; б – неоднозначность комбинированного субхронического действия наночастиц SeO и CuO на изменение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови. На осях – дозы, соответствующие MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изолах обозначают величину эффекта.

Fig. 4. Examples of isobolograms characterizing the combined toxic action of SeO- and CuO-NPs on rat liver functional indices: а – one-factor

action of CuO-NPs on albumin-globulin index change; б – the ambiguous action of SeO- and CuO-NPs on changes in the activity of alkaline phosphatase in blood serum. The concentrations of SeO- and CuO-NPs are plotted on the axes in mg/mL. The numbers at the isobole lines show the effect levels which they correspond to.

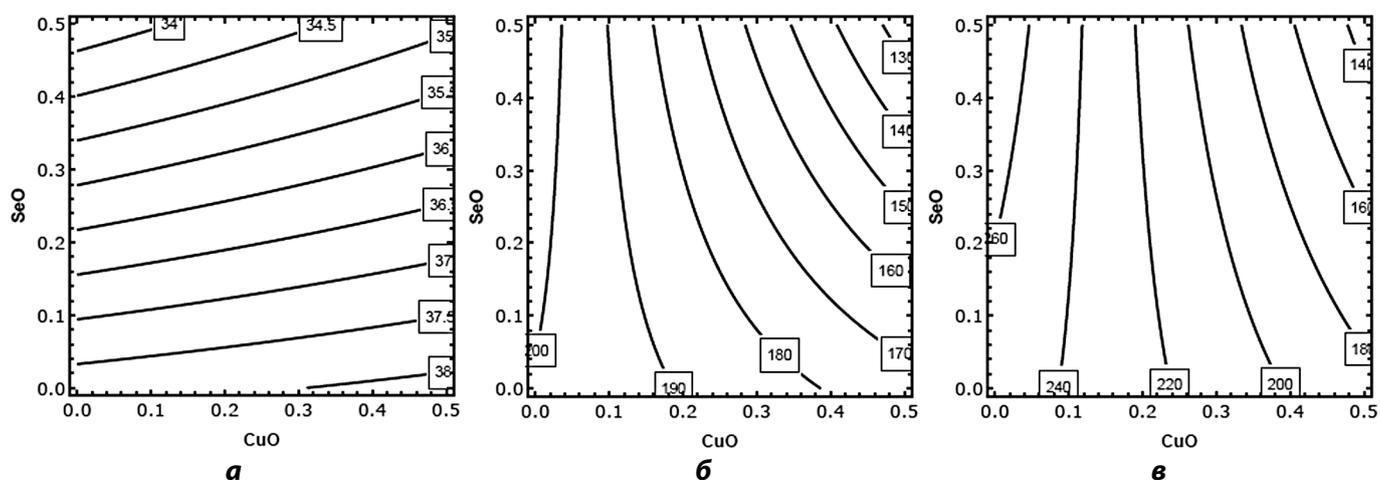
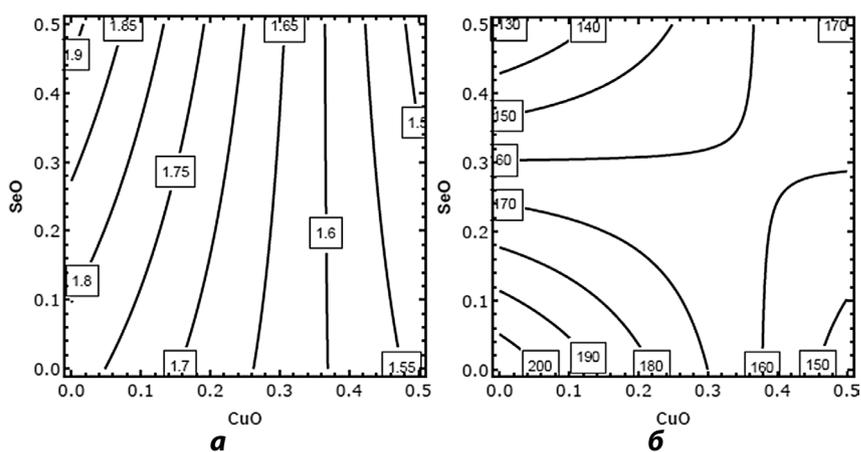


Рис. 5. Примеры изоболограмм, иллюстрирующие неоднозначность типа комбинированного действия НЧ оксидов селена и меди на различные показатели состояния почек. а – преимущественно однофакторное действие наночастиц SeO на уровень креатинина в сыворотке крови, ммоль/л; б – неоднозначность комбинированного субхронического действия наночастиц SeO и CuO на изменение уровня мочевой кислоты в моче: от практически однофакторного действия наночастиц меди до однонаправленного действия НЧ на высоких дозах токсикантов; в – преимущественно однофакторное действие наночастиц CuO на уровень мочевины в моче. На осях – дозы, соответствующие MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изолах обозначают величину эффекта.

Fig. 5. Examples of isobolograms characterizing the combined toxic action of SeO- and CuO-NPs on rats kidney functional indices: (а) one-factor action of SeO-NPs on the level of creatinine in the blood serum; (б) the combined action of SeO- and CuO-NPs on uric acid levels in urine changes: from almost one-factor action of copper nanoparticles to unidirectional action of NPs at high doses; (в) one-factor action of CuO-NPs on urinary urea levels. The concentrations of SeO- and CuO-NPs are plotted on the axes in mg/mL. The numbers at the isobole lines show the effect levels which they correspond to.

Таблица 2 / Table 2

Цитологические характеристики, полученные при оценке мазков-отпечатков паренхиматозных органов крыс, подвергшихся воздействию наночастиц оксидов селена и меди ($\bar{X} \pm Sx$)
Cytological characteristics of rats parenchymal organs tissue imprints as a percentage after subchronic exposure to NP-SeO, NP-CuO or in binary combination ($\bar{X} \pm Sx$)

Показатель	Контроль	Цитологические характеристики, полученные при оценке мазков-отпечатков печени крыс, %					
		НЧ SeO 0,25	НЧ SeO 0,5	НЧ CuO 0,25	НЧ SeO 0,25 + НЧ CuO 0,5	НЧ SeO 0,5 + НЧ CuO 0,25	
Дегенеративноизменённые гепатоциты	5,33 ± 0,42	12,33 ± 0,76 * ¹	11,00 ± 0,73 * ²	8,33 ± 0,67 * ^{2,3,4}	11,00 ± 0,63 * ⁵	12,50 ± 0,62 * ^{5,6}	10,83 ± 1,11 *
Нейтрофилы	8,67 ± 0,33	6,50 ± 0,76 * ¹	5,67 ± 0,67 * ²	4,83 ± 0,31 * ³	5,50 ± 0,62 * ⁴	4,17 ± 0,48 * ²	5,00 ± 0,58 *
Эозинофилы	3,67 ± 0,42	4,17 ± 0,48	4,00 ± 0,52	3,17 ± 0,48	3,33 ± 0,61	3,00 ± 0,37	4,00 ± 0,37
Двухядерные клетки	1,50 ± 0,22	1,33 ± 0,21	1,17 ± 0,17	1,33 ± 0,21	1,67 ± 0,33	1,17 ± 0,17	1,33 ± 0,21
Купферовские макрофаги	3,83 ± 0,31	2,50 ± 0,43 * ¹	3,83 ± 0,31 * ²	3,17 ± 0,48	4,00 ± 0,58	3,50 ± 0,43	3,50 ± 0,56
Цитологические характеристики, полученные при оценке мазков-отпечатков почек крыс, %							
Дегенеративные клетки проксимальных канальцев	6,33 ± 0,49	16,33 ± 0,92 * ¹	17,33 ± 0,99 * ²	14,17 ± 0,75 * ³	14,67 ± 0,49 * ⁴	13,50 ± 0,89 * ³	9,33 ± 0,33 * ^{2,3,4,5,6}
Дегенеративные клетки дистальных канальцев	5,00 ± 0,58	7,00 ± 0,37 * ¹	6,83 ± 0,48 * ²	6,17 ± 0,48	6,67 ± 0,33 * ³	7,00 ± 0,37 * ⁴	6,33 ± 0,42
Нейтрофилы	5,50 ± 0,56	6,00 ± 0,516	6,83 ± 0,48	5,33 ± 0,42	5,50 ± 0,43	4,33 ± 0,42 * ^{2,3}	4,33 ± 0,42 * ^{2,3}
Моноциты	3,83 ± 0,31	4,50 ± 0,43	3,83 ± 0,31	4,33 ± 0,33	3,83 ± 0,31	3,83 ± 0,48	4,67 ± 0,33
Эозинофилы	2,67 ± 0,33	4,50 ± 0,43 * ¹	4,33 ± 0,49 * ²	4,83 ± 0,31 * ³	4,33 ± 0,42 * ⁴	4,67 ± 0,33 * ⁵	4,00 ± 0,37 * ⁶

меди наблюдалось снижение белок-синтезирующей функции печени, о котором судили по снижению альбумино-глобулинового индекса в сыворотке крови. Как видно из табл. 1, ведущий вклад в снижение альбумино-глобулинового индекса вносят наночастицы оксида меди, что подтверждается RSM-анализом (рис. 4, а). При воздействии дозы селена, превышающей дозу меди «SeO 0,5 + CuO 0,25» значение показателя приближается к контрольному. Статистически значимое снижение активности щелочной фосфатазы в сыворотке происходит при изолированном влиянии обоих токсикантов (в группах «SeO 0,5», «CuO 0,5»), а их комбинированное действие неоднозначно (рис. 4, б).

О нарушении функции почек при комбинированном воздействии наночастиц оксидов селена и меди свидетельствуют снижение уровня мочевины и мочевой кислоты в моче в группе «SeO

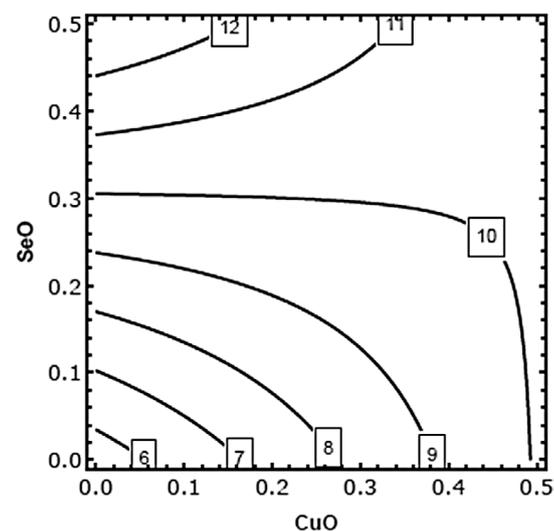


Рис. 6. Неоднозначность комбинированного субхронического действия наночастиц SeO и CuO на число дегенеративно-изменённых гепатоцитов в мазках-отпечатках печени: от субаддитивности на низких дозах токсикантов до противонаправленного действия на высоких дозах наночастиц оксида селена. На осях – дозы, соответствующие MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта.

Fig. 6. Isoholes of binary combined toxicity of SeO- and CuO-NPs assessed by an change in change degenerated hepatocytes or rat liver tissue imprints: from subadditivity at low doses to counteraction at high doses SeO-NP. The concentrations of SeO- and CuO-NPs are plotted on the axes in mg/mL. The numbers at the isobole lines show the effect levels which they correspond to.

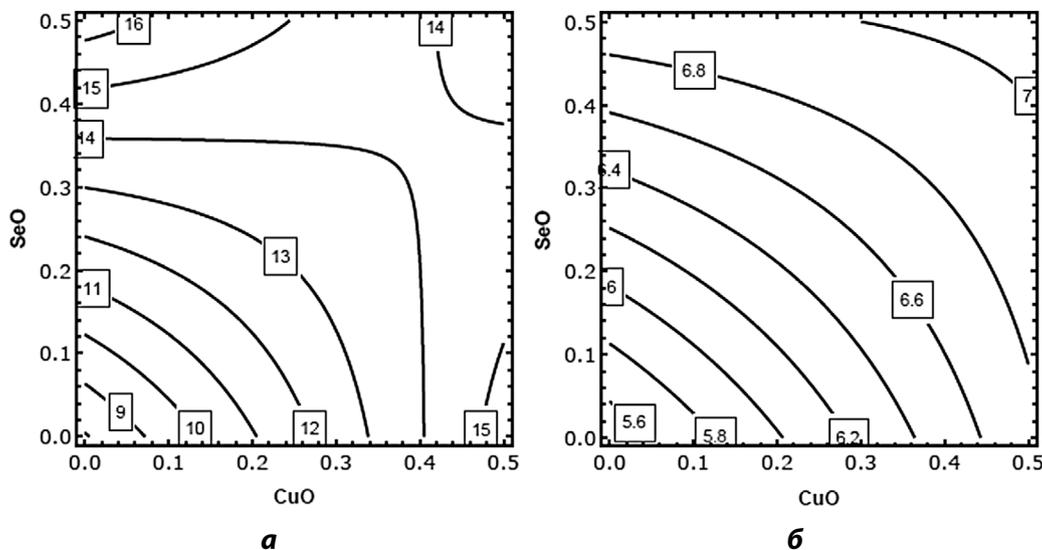


Рис. 7. Примеры изоболограмм, иллюстрирующие неоднозначность типа комбинированного действия селена и меди на число дегенеративных клеток канальцев в мазках-отпечатках почек: *a* – неоднозначность комбинированного субхронического действия наночастиц SeO и CuO на число дегенеративных клеток проксимальных канальцев (аддитивность, переходящая в субаддитивность при увеличении доз наночастиц, которая сменяется супераддитивностью при сочетании наибольших, исследованных в эксперименте, доз наночастиц); *б* – субаддитивное действие наночастиц SeO и CuO на число дегенеративных клеток дистальных канальцев. На осях – дозы, соответствующие MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта.

Fig. 7. Examples of isobolograms characterizing the combined toxic action of SeO- and CuO-NPs on rats liver functional indices: *a* – combined action of SeO- and CuO-NPs on the number of degenerative cells of the proximal tubules (additivity that turns into subadditivity with increasing doses of nanoparticles and changes into superadditivity with the combination of the highest doses); *б* – subadditive action of SeO- and CuO-NPs on the number of degenerative cells in the distal tubules. The concentrations of SeO- and CuO-NPs are plotted on the axes in mg/mL. The numbers at the isobole lines show the effect levels which they correspond to.

0,5 + CuO 0,5». В группе «SeO 0,25 + CuO 0,5» статистически значимо в сравнении с контролем снижается уровень креатинина в сыворотке крови. При RSM-анализе выявлена неоднозначность воздействия токсикантов на «почечные» показатели: практически однофакторное действие наночастиц оксида селена на уровень креатинина в сыворотке крови (рис. 5, *a*) и меди на уровень мочевины и мочевой кислоты в моче (рис. 5, *б, в*).

Во всех группах, экспонированных к НЧ SeO и CuO, по сравнению с контрольной группой повышается число дегенеративно-измененных гепатоцитов в мазках-отпечатках печени (табл. 2). При анализе изоболограмм, полученных с помощью построения поверхности отклика (RSM-анализ), тип комбинированного действия наночастиц оксидов селена и меди различается при сочетании разных уровней доз наночастиц оксидов селена и меди (рис. 6).

В группе комбинированного воздействия по сравнению с контролем статистически значимо возрастает число дегенеративных клеток про-

симальных и дистальных канальцев почек (см. табл. 2). Проксимальные канальцы повреждаются в большей степени, чем дистальные. При изолированном воздействии изменения, вызванные НЧ, более выражены, чем во всех группах комбинированного воздействия, что позволяет предположить ослабление вредного эффекта при комбинированном действии наночастиц. В группе «SeO 0,5 + CuO 0,25» существенно снижается количество дегенеративных клеток дистальных канальцев (практически до уровня контрольных значений) и дегенеративных клеток проксимальных канальцев (статистически значимо с другими группами изолированного и комбинированного воздействия).

При RSM-анализе выявлена противонаправленность комбинированного действия наночастиц на число дегенеративных клеток дистальных канальцев почек (рис. 7, *б*). Комбинированное действие наночастиц на число дегенеративных клеток проксимальных канальцев почек характеризуется субаддитивностью на низких дозах токсикантов и синергизмом на высоких (рис. 7, *a*).

Заключение

В субхроническом эксперименте токсическое действие наночастиц оксидов селена и меди на системно-организменном уровне проявилось в снижении энергетических процессов в организме, токсическом повреждении печени и почек.

Математический анализ, основанный на модели поверхности отклика, показал, что комбинированное действие наночастиц оксидов селена и меди характеризуется типологическим разнообразием. Исходя из значений некоторых биохимических показателей, таких как сукцинатдегидрогеназа в лимфоцитах крови и щелочная фосфатаза в сыворотке крови, а также по

числу дегенеративно-измененных гепатоцитов в мазках-отпечатках печени, дегенеративных клеток канальцев в мазках-отпечатках почек, можно предположить, что действие низких доз наночастиц оксида селена на организм крыс вызвало протекторный эффект на фоне интоксикации медью. Но при этом тип комбинированного действия наночастиц оксидов селена и меди при введении 2 мл соответствующих НЧ в разовой дозе 2 мг/кг с концентрацией суспензии 0,25 мг/мл в некоторых дозах характеризовался как суперрадикальность, что необходимо учитывать при оценке риска для здоровья рабочих, в частности в химико-металлургических и шламовых цехах при производстве селена из медных шламов.

ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 3, 8, 9, 12–14 см. References)

1. Кульчицкий Н.А., Наумов А.В. Современные оптоэлектронные приборы на основе селенида цинка. *Наноинженерия*. 2014; 1: 19–27.
2. Лебедь А.Б., Набойченко С.С., Шунин В.А. *Производство селена и теллура на ОАО «Уралэлектромедь»: учебное пособие*. Под общ. ред. С.С. Набойченко. Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та; 2015.
4. Мадарь И.И. Гидрометаллургическое извлечение селена из продуктов экстракционной переработки промывной кислоты медного производства. Автореф. дисс. канд. тех. наук. Санкт-Петербург; 2015.
5. Ляпищев Ю.Б. Современное состояние переработки электролитных шламов медного производства. *Записки Горного института*. 2006; 167(2): 245–7.
6. Гурвич В.Б., Кацнельсон Б.А., Рузаков В.О., Привалова Л.И., Бушуева Т.В., Гребенкина С.В. Биохимические эффекты у рабочих, подвергающихся влиянию аэрозолей металлургического производства меди, содержащих наночастицы. В кн.: *Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути её снижения»*, Екатеринбург, 20–21 октября 2016 г. Екатеринбург: Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий; 2016: 21–3.
7. Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А., Логинова Н.В., Гурвич В.Б., Шур В.Я., Бейкин Я.Б., Сутункова М.П., Минигалиева И.А., Шишкина Е.В., Пичугова С.В., Тулакина Л.Г., Беляева С.В., Рузаков В.О. Цитологические и биохимические особенности жидкости, получаемой при бронхо-альвеолярном лаваже у крыс после интратрахеального введения наноразмерных меднооксидных частиц. *Токсикологический вестник*. 2014; 5(128): 8–15.
10. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. *Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник*. М.: Медицина; 1987: 368.
11. Нарциссов Р.П. Применение п-нитротетразоли фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека. *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. 1969; 5: 85–91.
1. Kulchitsky N.A., Naumov A.V. Modern optoelectronic devices based on zinc selenide. *Nanoengineering*. 2014; 1: 19–27. (in Russian)
2. Lebed A.B., Naboychenko S.S., Shunin V.A. *Production of selenium and tellurium at JSC «Uralelectromed»: a tutorial (Proizvodstvo selenia i tellura na ОАО «Uralelectromed»: учебное пособие)*. Edited by S.S. Naboychenko. Yekaterinburg: Ural University Publishing House; 2015. (In Russian)
3. Vrček I.V. Selenium Nanoparticles: Biomedical Applications. *Molecular and Integrative Toxicology*. 2018: 393–412.
4. Madar I.I. Hydrometallurgical extraction of selenium from products of extraction processing of washing acid of copper production. Dr. cand. tech. sci. St. Petersburg; 2015. (in Russian)
5. Lyapishchev Yu.B. *Modern state of processing of electrolytic slimes of copper production*. *Zapiski Gornogo Instituta*. 2006; 167(2): 245–7. (in Russian)
6. Gurvich V.B., Katsnelson B.A., Ruzakov V.O., Privalova L.I., Bushueva T.V., Grebyonkina S.V. Biochemical effects in workers exposed to copper metallurgical production aerosols containing nanoparticles. Topics of current hygienic importance in nanotoxicology: theoretical premises, hazards identification and ways of their attenuation. In: *Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation «Actual hygienic aspects of nanotoxicology: theoretical foundations, identification of health hazards and ways to reduce it»*, Yekaterinburg, October 20–21, 2016 [Materialy Vserossiyskoj nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem «Aktual'nye gigienicheskie aspekty nanotoksikologii: teoreticheskie osnovy, identifikaciya opasnosti dlya zdorov'ya i puti eyo snizheniya»], Yekaterinburg, 20–21 oktyabrya 2016 g. Yekaterinburg: Yekaterinburg Medical Scientific Center for Prevention and Health Protection of Industrial Workers; 2016: 21–23. (in Russian)
7. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Beikin Y.B., Sutunkova M.P., Minigaliev I.A., Shishkina E.V., Pichugova S.V., Tulakina L.G., Belayeva S.V., Ruzakov V.O. Cytological and biochemical characteristics of bronchoalveolar lavage fluid in rats after intratracheal instillation of copper oxide nano-scale particles. *Toxicologicheskii Vestnik*. 2014; 5: 8–15. (in Russian)
8. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Shur V.Y., Shishkina E.V., Valamina I.E., Zubarev I.V., Makeyev O.H., Meshcheryakov E.Y., Klinova S.V. In vivo toxicity of copper oxide, lead oxide and zinc oxide nanoparticles acting in different combinations and its attenuation with a complex of innocuous bio-protectors. *Toxicology*. 2017; 380: 72–93. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.02.007>
9. Ellman G., Lysko H. A precise method for the determination of whole blood and plasma sulphydryl groups. *Text. Anal. Biochem.* 1979; 93(1): 98–102.
10. Mentshikov V.V., Delektorskaya L.N., Zolotniitskaya R.P. *Laboratory research methods in the clinic: a Handbook [Laboratory'e metody' issledovaniya v klinike: Spravochnik]*. Moscow: Medicina; 1987. (in Russian)
11. Narcissov R.P. Application of p-nitrotetrazole violet for quantitative cytochemistry of human lymphocyte dehydrogenases. *Archive of anatomy, histology and embryology*. 1969; 5: 85–91. (in Russian)
12. Katsnelson B.A., Minigaliev I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Shur V.Y., Shishkina E.V., Valamina I.E., Makeyev O.H. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *J. Food Chem. Toxicol.* 2015; 86: 351–64.
13. Tzagoloff A. *Mitochondria*. New York: Plenum Press; 1982.
14. Ackrell B.A.C., Johnson M.K., Gunsalus R.P., Cecchini G. *Structure and function of succinate dehydrogenase and fumarate reductase*. F. Muller, ed. Chemistry and Biochemistry of Flavoproteins Boca Raton, FL: CRC Press 1992; 3: 229–97.

ОБ АВТОРАХ.

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), доктор биологических наук, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики, заведующий лабораторией промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

Рябова Юлия Владимировна (Ryabova Yuliya Vladimirovna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: ryabova@umrc.ru

Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), доктор медицинских наук, директор ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: sutunkova@umrc.ru

Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich), доктор медицинских наук, научный руководитель ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: gurvich@umrc.ru

Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией научных основ биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: privalovali@yahoo.com

Панов Владимир Григорьевич (Panov Vladimir Grigorievich), кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории математического моделирования в экологии и медицине Института промышленной экологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: vpanov@ecko.uran.ru

Тажигулова Анастасия Валерьевна (Tazhigulova Anastasiya Valeryevna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, Российская Федерация. E-mail: tazhigulovaav@umrc.ru

Соловьева Светлана Николаевна (Solovyeva Svetlana Nikolaevna), кандидат ветеринарных наук, заведующий клиникой экспериментальных животных, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: solovyevasn@umrc.ru

Сутункова Юлия Максимовна (Sutunkova Yulia Maksimovna), лаборант отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: sutunkovajulia@gmail.com

Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), доктор медицинских наук, профессор, научный консультант ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург. E-mail: bkaznelson@umrc.ru

