

# МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 613.632.2; 546.562; 615.916  
DOI: 10.21668/health.risk/2023.4.12

Читать  
онлайн 

Научная статья

## ОЦЕНКА ОСОБЕННОСТЕЙ БИОНАКОПЛЕНИЯ И ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА МЕДИ (II) НА ОРГАНЫ ДЫХАНИЯ ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОМ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ В СРАВНЕНИИ С МИКРОРАЗМЕРНЫМ ХИМИЧЕСКИМ АНАЛОГОМ ДЛЯ ЗАДАЧ ПРОФИЛАКТИКИ

М.С. Степанков

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Российская Федерация, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

*В настоящее время актуальным является уточнение параметров и особенностей негативных эффектов действия наночастиц оксида меди (НЧ CuO) на органы дыхания при ингаляционном пути поступления в организм для разработки эффективных профилактических мер.*

*Осуществлена оценка особенностей бионакопления и характера токсического действия НЧ CuO на органы дыхания в сравнении с микроразмерным химическим аналогом при экспериментальном моделировании ингаляционной экспозиции для задач профилактики.*

*Определены значения физических параметров тестируемых материалов. Экспериментальное исследование проведено на крысах линии Wistar. Животных подвергали однократной ингаляционной экспозиции в течение 4 ч в концентрации ~4 мг/м<sup>3</sup>; субхронической ингаляционной экспозиции в концентрации 1,2–1,4 мг/м<sup>3</sup>; однократной интратрахеальной экспозиции в дозе 0,005 г на крысу. Изучены особенности бионакопления НЧ, их влияния на состав клеточной популяции жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ), развития патоморфологических нарушений в тканях и массу легких в сравнении с микрочастицами (МЧ). НЧ CuO в сравнении с МЧ обладают меньшим размером, гидродинамическим диаметром, большей удельной площадью поверхности и суммарным объемом пор, что обуславливает большую проникающую способность НЧ. Бионакопление в легких при однократной ингаляционной экспозиции сопоставимо между НЧ и МЧ. При многократной экспозиции НЧ проявляют большую степень бионакопления. Однократное интратрахеальное воздействие вызывает более выраженные изменения состава клеточной популяции в жидкости БАЛЖ. При экспозиции НЧ в легких наблюдается эмфизема, отек и экссудация эритроцитов, не выявленные при экспозиции МЧ.*

*Таким образом, НЧ CuO при однократной интратрахеальной (0,005 г на крысу) и субхронической ингаляционной экспозиции (1,2 мг/м<sup>3</sup>) обладают большей степенью бионакопления и токсического действия на органы дыхания (легкие) в сравнении с микроразмерным химическим аналогом. Полученные результаты необходимо учитывать при разработке мер, направленных на профилактику развития негативных эффектов со стороны органов дыхания при ингаляционной экспозиции изучаемым наноматериалом.*

**Ключевые слова:** оксид меди (II), наночастицы, микрочастицы, ингаляционная экспозиция, бионакопление, негативные эффекты, клеточно-фагоцитарная активность, крысы линии Wistar.

В настоящее время в различных сферах хозяйственной деятельности человека актуален вопрос повышения качества продукции с одновременным снижением затрат на ее производство. Одним из путей решения данной задачи является внедрение металлических наночастиц (НЧ) в состав продукции и технологические процессы ее производства [1].

НЧ представляют собой объекты различных форм, размер которых хотя бы в одном измерении соответствует диапазону 1–100 нм. Малый диаметр НЧ обуславливает возникновение квантово-размерных эффектов, благодаря чему наноматериалы обладают адсорбционной активностью, реакционной способностью, электрическими, оптическими, магнитными

© Степанков М.С., 2023

Степанков Марк Сергеевич – младший научный сотрудник лаборатории биохимической и наносенсорной диагностики (e-mail: stepankov@fcrisk.ru; тел: 8 (342) 237-18-15; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7226-7682>).

ми, механическими и термодинамическими свойствами, не характерными для микроразмерных химических аналогов [2–5].

Одним из таких наноматериалов являются НЧ оксида меди (II) (CuO). Согласно результатам анализа Research and Markets, мировой рынок НЧ CuO в 2021 г. оценивается в 122,77 млн долларов США. При совокупном среднегодовом темпе роста 25,8 % к 2027 г. прогнозируют увеличение мирового рынка примерно в 4 раза (до 486,62 млн долларов США) [6]. Основным фактором увеличения является активное внедрение НЧ CuO в электроприборостроение из-за их уникальных проводящих свойств, обеспечивающих высокую производительность полупроводниковых устройств, аккумуляторов, компьютерной техники [6]. Кроме этого, НЧ CuO используют в медицине в составе биоцидных и противораковых препаратов [7]; косметологии – в продуктах личной гигиены [8]; сельском хозяйстве – в качестве компонента удобрений и пестицидов [9, 10]; аэрокосмической отрасли – в роли катализатора горения топлива [11] и в составе структурных элементов летательных аппаратов [12].

Согласно результатам исследований, представленных в научной литературе, НЧ CuO характеризуются токсическими свойствами, обуславливающими потенциальную опасность для здоровья человека. В экспериментах на биологических моделях доказана их способность инициировать процессы свободнорадикального окисления [13], изменяющие экспрессию белков, что приводит к нарушениям метаболических процессов в клетке [14], функций и морфологии тканей органов [15]. При этом оказываемые НЧ негативные эффекты, как правило, более выражены в сравнении с микроразмерными химическими аналогами.

Активное использование потенциально опасных НЧ CuO в различных сферах хозяйственной деятельности человека обуславливает вероятность их поступления в объекты окружающей среды, в первую очередь в атмосферный воздух, что формирует риск негативного воздействия на здоровье человека при аэрогенной экспозиции. Согласно информации, представленной в Р 2.1.10.1920-04, при остром и хроническом ингаляционном воздействии микроразмерного CuO критическими являются органы дыхания<sup>1</sup>. Это позволяет предположить, что при ингаляционной экспозиции НЧ органы дыхания также будут являться органами-мишенями. Принимая во внимание вышесказанное, актуальным является уточнение параметров и особенностей негативных эффектов действия

НЧ CuO на органы дыхания при ингаляционном пути поступления в организм в сравнении с микроразмерным химическим аналогом для разработки эффективных профилактических мер.

**Цель исследования** – оценка особенностей бионакопления и характера токсического действия НЧ CuO на органы дыхания в сравнении с микроразмерным химическим аналогом при экспериментальном моделировании ингаляционной экспозиции для задач профилактики.

**Материалы и методы.** В исследовании тестировали коммерческие образцы порошков НЧ и микрочастиц CuO (МЧ) производства компании Sigma Aldrich (США). У частиц тестируемых материалов изучали физические свойства: размер в составе порошка, гидродинамический диаметр в водной суспензии, удельную площадь поверхности и суммарный объем пор. Размер определяли методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) с помощью электронного микроскопа JSM-63090LV (JEOL, Япония); гидродинамический диаметр – методом динамического лазерного светорассеяния на анализаторах Horiba LB-550 (Horiba, Япония) и Microtrac S3500 (Microtrac, США); удельную площадь поверхности и суммарный объем пор – на анализаторе ASAP 2020 (Micromeritics, США) методами Брунауэра, Эммета и Теллера и Баррета, Джойнера и Халенды соответственно<sup>2</sup>.

Оценку бионакопления и негативных эффектов тестируемых материалов на органы дыхания проводили в серии экспериментов. Экспериментальные исследования проводили на крысах линии Wistar массой  $185 \pm 20,4$  г. Крыс содержали в помещении вивария в полиэтиленовых клетках при температуре около 23 °С, относительной влажности воздуха ~ 47 %, сменяемой световой и темновой фазе раз в 12 ч. Для крыс организовали свободный доступ к комбинированному корму и чистой воде, кроме часов проведения экспозиций. Проведение эксперимента одобрено этическим комитетом Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения. Выполнено моделирование острого и субхронического ингаляционного поступления НЧ и МЧ CuO в организм. Целенаправленное действие данных веществ на легкие исследовали при однократном интратрахеальном введении. Для каждого эксперимента формировали три группы: опытная группа подвергалась экспозиции НЧ CuO, группа сравнения – МЧ CuO, контрольная группа содержалась в аналогичных условиях без воздействия тестируемых веществ.

<sup>1</sup> Р 2.1.10.1920-04. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 143 с.

<sup>2</sup> Грег С., Синг К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость: монография / пер. с англ. А.П. Карнаухова. – М.: Мир, 1984. – 310 с.; Barrett E.P., Joyner L.G., Halenda P.P. The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms // Journal of American Chemical Society. – 1951. – Vol. 73, № 1. – P. 373–380. DOI: 10.1021/ja01145a126

Моделирование ингаляционной экспозиции НЧ и МЧ проводили в камере для воздействия на все тело (TSE Systems GmbH, Германия). Аэрозоль генерировали подачей водных суспензий НЧ и МЧ CuO в концентрации 125 мг/см<sup>3</sup> в форсунку ингаляционной системы. На протяжении всех экспериментов циркуляцию воздуха в экспозиционной камере обеспечивали входящим и исходящими потоками со скоростью 10 дм<sup>3</sup>/мин, что позволило обеспечить полное обновление воздуха за 10 мин. Фактическую концентрацию тестируемых материалов определяли с помощью анализатора аэрозоля DustTrak 8533 (TSI Inc, США), отбирая образцы воздуха из камеры со скоростью 2 дм<sup>3</sup>/мин в течение 5 мин перед началом экспозиций, через 2 и 4 ч.

Моделирование острой ингаляционной токсичности выполняли в соответствии с ГОСТ 32646-2014<sup>3</sup>. Выборка каждой экспериментальной группы включала 6 особей. Полученные суспензии подавали в ингаляционную систему со скоростью 0,4 см<sup>3</sup>/мин, что позволило достичь максимально возможной концентрации тестируемых материалов в камере, составившей ~ 4 мг/м<sup>3</sup>. Экспозицию проводили однократно в течение 4 ч.

Субхроническую ингаляционную экспозицию осуществляли в соответствии с МУ 1.2.2635-10<sup>4</sup>. Каждую экспериментальную группу формировали из 10 крыс. Суспензии подавали в камеру со скоростью 0,1 см<sup>3</sup>/мин для достижения концентрации НЧ и МЧ CuO на уровне ~ 1/4 от максимально возможной (1,2–1,4 мг/м<sup>3</sup>). Длительность экспозиции составила 28 суток по 6 ч в сутки.

За крысами, экспонированными однократно, для установления гибели и отложенных токсических эффектов наблюдали в течение 14 суток. По окончании периода наблюдения животных эвтанировали цервикальной дислокацией с последующей немедленной декапитацией и изъятием легких. Аналогичная процедура осуществлена с крысами, подвергнутыми многократному воздействию, через 24 ч после окончания последней экспозиции. Массу изъятых легких определяли с помощью лабораторных весов EW-1500i (AND, Япония). Сравнительный анализ бионакопления НЧ и МЧ проводили, измеряя концентрацию меди методом атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрофотометре AAnalyst 400 (PerkinElmer, США).

Патоморфологические изменения тканей легких при многократной ингаляционной экспозиции выявляли с помощью светооптического микроскопа AxioLab A1 (CarlZeiss, Германия) на препаратах из

срезов легких толщиной 3–4 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином.

Эксперимент по изучению клеточно-фагоцитарной активности при целенаправленном воздействии НЧ и МЧ CuO на органы дыхания выполнен при однократном интратрахеальном введении в соответствии с МР № 01-19/24-17<sup>5</sup>. Каждую экспериментальную группу формировали из 10 особей. Суспензии на основе 0,9 % стерильного изотонического раствора натрия хлорида (0,9 % NaCl), содержащие тестируемые материалы в концентрации 0,013 г/см<sup>3</sup>, вводили крысам однократно интратрахеально в объеме 0,4 см<sup>3</sup> на крысу. Количество введенного вещества одной особи составило 0,005 г. Через 24 ч после экспозиции крыс эвтанировали и проводили отбор жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ). Мазки для исследования состава клеточной популяции отобранной жидкости готовили по общепринятой методике. Подсчет клеток осуществляли при микроскопировании иммерсионной системой с увеличением 900х.

Статистическую обработку результатов исследования для выявления различий между экспериментальными группами осуществляли по *U*-критерию Манна – Уитни, рассчитанному в программе Statistica 10. Различия полученных результатов считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** По результатам исследования физических свойств размер НЧ CuO составил 45,86 нм, что меньше микродисперсного химического аналога в 304,99 раза (13 987 нм) (рис. 1). Средний гидродинамический диаметр НЧ CuO в водной среде соответствовал 307,40 нм, что в 106,60 раза меньше изучаемого показателя у МЧ CuO (32 770 нм) (рис. 2). Удельная площадь поверхности НЧ больше, чем у МЧ CuO, в 9,61 раза и составила 17,70 против 1,84 м<sup>2</sup>/г. Суммарный объем пор НЧ CuO равен 0,056 см<sup>3</sup>/г, что в 9,33 раза больше, чем у МЧ CuO (0,006 см<sup>3</sup>/г).

На протяжении однократной экспозиции и в период наблюдения не наблюдается видимого ухудшения общего состояния и гибели крыс, вызванных токсическим действием тестируемых материалов. Бионакопление НЧ и МЧ CuO в ткани легких сопоставимо (увеличение концентрации меди ~ в 1,4 раза относительно контрольных данных) без статистически значимых различий между группами опыта и сравнения (табл. 1).

Клеточно-фагоцитарная активность дыхательных путей крыс через 24 ч после экспозиции НЧ CuO, в отличие от контрольных данных, характеризуется

<sup>3</sup> ГОСТ 32646-2014. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая ингаляционная токсичность – метод определения класса острой токсичности (метод АТС). – М.: Стандартинформ, 2019. – 28 с.

<sup>4</sup> МУ 1.2.2635-10. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов: методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 122 с.

<sup>5</sup> МР № 01-19/24-17. Методические рекомендации по использованию клеточных систем *in vitro* и *in vivo* для ускорения гигиенической регламентации малорастворимых промышленных аэрозолей. – Екатеринбург, 1995. – 28 с.

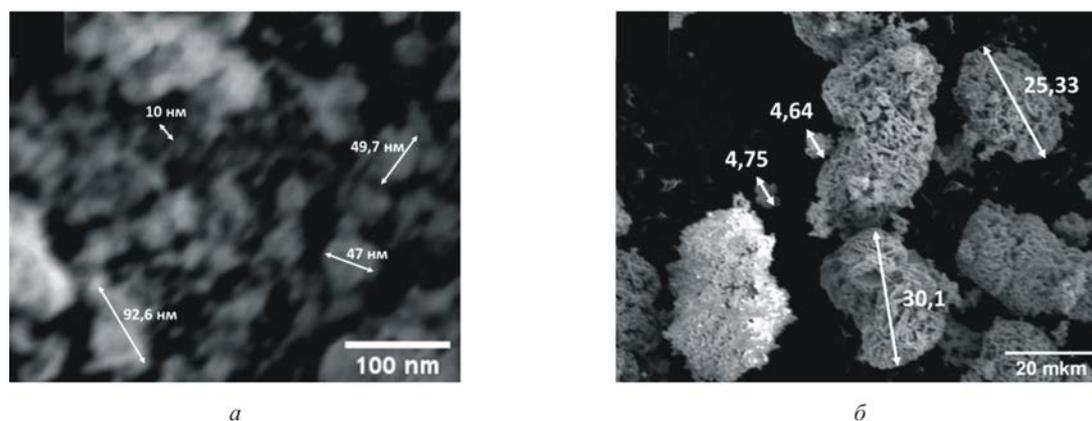


Рис. 1. Изображение частиц CuO методом РЭМ: *a* – наночастицы, *б* – микрочастицы

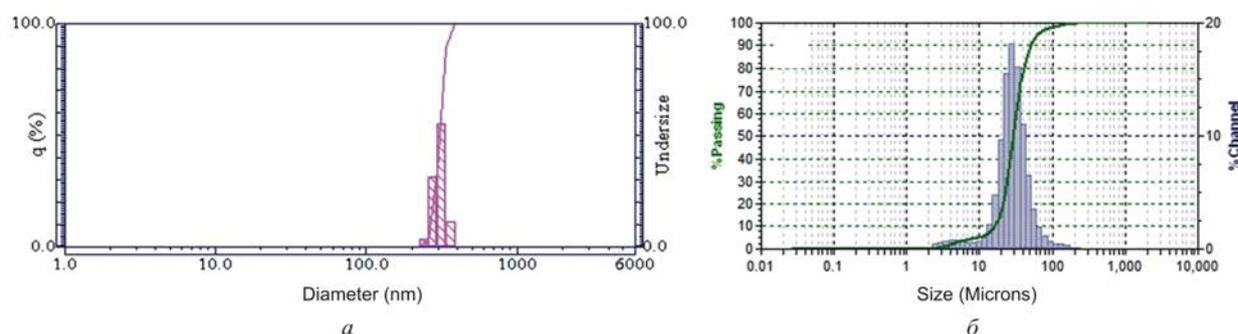


Рис. 2. Результаты измерения гидродинамического диаметра частиц CuO в водной среде: *a* – наночастицы, *б* – микрочастицы

Таблица 1

Концентрация меди в органах крыс при однократной ингаляционной экспозиции НЧ и МЧ CuO,  $p \leq 0,05$

Эксперимент	Концентрация меди в легких, $M \pm m$ , мкг/г		
	Экспозиция НЧ	Экспозиция МЧ	Контрольная группа
Однократная ингаляционная экспозиция	15,93 ± 3,69*	16,55 ± 4,31*	11,50 ± 2,53
Многократная ингаляционная экспозиция	17,10 ± 1,99*^	11,64 ± 0,30*	9,70 ± 0,56

Примечание: \* – статистически значимое отличие от контрольной группы, ^ – от группы сравнения.

увеличением содержания сегментоядерных нейтрофилов в 2,51 раза ( $p < 0,001$ ), альвеолярных макрофагов – в 4,11 раза ( $p < 0,001$ ); снижением моноцитов – в 6,00 раза ( $p < 0,001$ ), лимфоцитов – в 10,68 раза ( $p < 0,001$ ), соотношения сегментоядерных нейтрофилов к альвеолярным макрофагам – в 1,79 раза ( $p < 0,01$ ). Состав клеточной популяции при экспозиции МЧ CuO отличался от контрольных данных повышенным относительным числом сегментоядерных нейтрофилов в 2,51 раза ( $p < 0,001$ ), альвеолярных макрофагов – в 1,59 раза ( $p < 0,01$ ); сниженным числом моноцитов – в 2,59 раза ( $p < 0,001$ ), лимфоцитов – в 4,65 раза ( $p < 0,001$ ). Сравнительный анализ показал, что клеточно-фагоцитарная активность при экспозиции НЧ отличается от эффекта, вызванного МЧ, большим относительным числом альвеолярных макрофагов в 2,58 раза ( $p < 0,001$ ), меньшим числом моноцитов – в 2,31 раза ( $p < 0,001$ ), лимфоцитов – в 2,30 раза ( $p < 0,001$ ) и соотношением сегментоядерных нейтрофилов к альвеолярным макрофагам – в 2,52

раза ( $p < 0,001$ ). Результаты исследования клеточно-фагоцитарной активности представлены в табл. 2.

При субхронической экспозиции не установлено ухудшения состояния животных или их гибели. При воздействии НЧ CuO выявлено увеличение концентрации меди в легких в 1,76 раза ( $p < 0,05$ ), МЧ – в 1,20 раза ( $p < 0,05$ ) относительно контрольных данных. Содержание меди при воздействии НЧ выше в 1,45 раза ( $p < 0,05$ ) относительно данного показателя при экспозиции МЧ (табл. 1). Согласно результатам гистологического исследования в легких крыс при воздействии НЧ CuO зафиксирована гиперплазия лимфоидной ткани в стенках бронхов, острая воспалительная реакция бронхов, очаги воспаления интерстиция, распространенные васкулиты, коричневая пигментация макрофагов, очаги эмфиземы и экссудация эритроцитов в просвет альвеол и отек. При аналогичном воздействии МЧ CuO отсутствует эмфизема, отек и скопления эритроцитов в альвеолах (рис. 3).

Состав клеточной популяции в 100 клетках мазка бронхоальвеолярных смывов крыс через 24 ч после интратрахеальной инстиляции водных суспензий НЧ и МЧ CuO,  $p \leq 0,05$

Параметр	Состав клеточной популяции, $M \pm m$		
	Экспозиция НЧ	Экспозиция МЧ	Контроль
Сегментоядерные нейтрофилы, %	75,6 ± 0,45*	75,5 ± 0,37*	30,1 ± 2,82
Моноциты, %	3,2 ± 0,25*^	7,4 ± 0,58*	19,2 ± 1,67
Альвеолярные макрофаги, %	15,2 ± 0,93*^	5,9 ± 0,32*	3,7 ± 0,40
Лимфоциты, %	4,4 ± 0,54*^	10,1 ± 0,35*	47,0 ± 0,86
Отношение сегментоядерные нейтрофилы / альвеолярные макрофаги, усл. ед.	5,21 ± 0,44*^	13,13 ± 0,69	9,34 ± 1,49

Пр и м е ч а н и е: \* – статистически значимое отличие от контрольной группы, ^ – от группы сравнения.

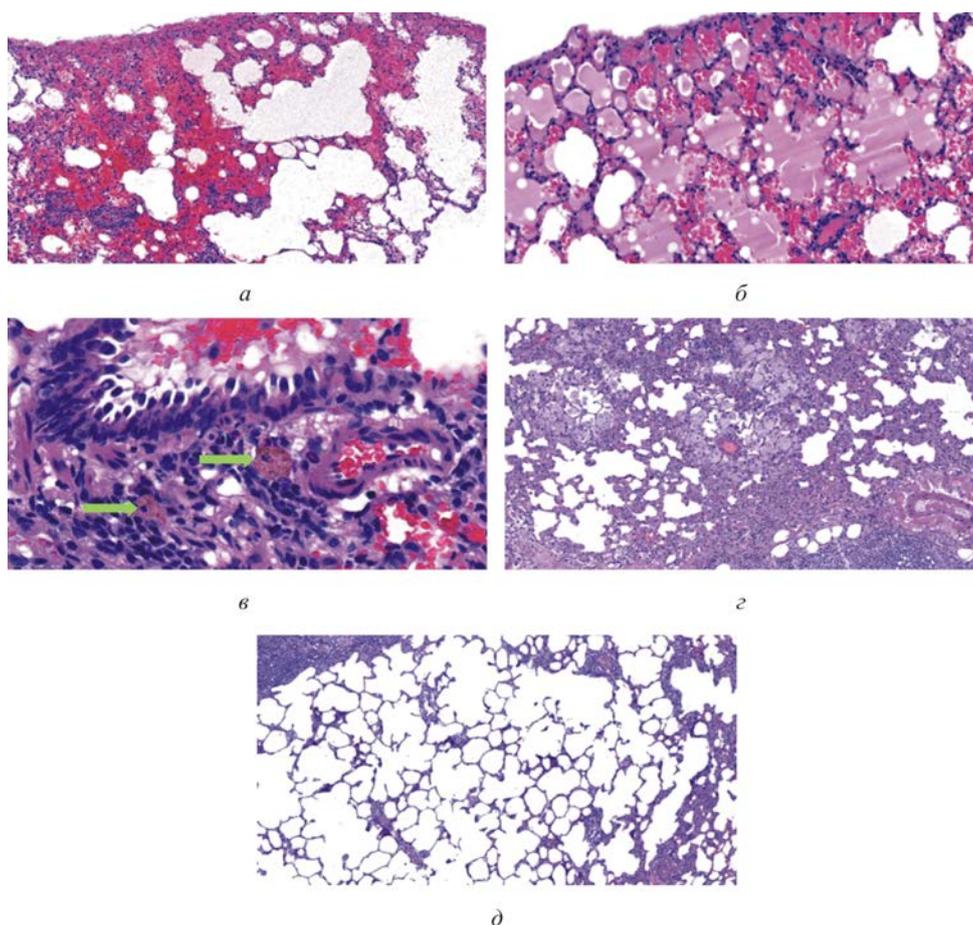


Рис. 3. Микрофотографии гистологических препаратов легких крыс, подвергнутых многократной ингаляционной экспозиции НЧ и МЧ CuO, окраска гематоксилином и эозином: *а* – опытная группа, участки эмфиземы и кровоизлияний, увеличение 100х; *б* – опытная группа, альвеолярный отек, увеличение 200х; *в* – опытная группа, на зеленой стрелке макрофаги с коричневым пигментом в стенке бронха, увеличение 400х; *з* – группа сравнения, увеличение 100х; *д* – контрольная группа, увеличение 100х

Патоморфологические изменения тканей легких при многократной ингаляционной экспозиции тестируемыми материалами сопровождаются снижением массы органа. При воздействии НЧ масса легких снижена в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) ( $2,1 \pm 0,1$  г), МЧ – в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) ( $1,8 \pm 0,1$  г) относительно контрольных данных без статистически значимых различий между группами опыта и сравнения.

Анализ и обобщение полученных результатов проведенных исследований показал, что тестируемый образец CuO по показателям размера, удельной площади поверхности и суммарного объема пор является наноматериалом с выраженным отличием физических свойств от микроразмерного химического аналога. Известно, что стабильность наноразмерной фазы НЧ CuO напрямую зависит от электро-

статического отталкивания, возникающего между частицами и уменьшающегося по мере приближения pH среды к 6 [16]. Предположительно, электростатическое отталкивание в водной среде с pH = 7 ослаблено, что способствует притягиванию и агрегации НЧ друг с другом. Это подтверждается результатами измерения гидродинамического диаметра методом динамического рассеяния света (ДРС), согласно которым размер НЧ CuO в водной среде выше в 6,70 раза относительно значения данного показателя в составе нативного порошка, полученного методом РЭМ. Совокупность физических особенностей НЧ CuO позволяет предположить их большую проникающую способность, а следовательно, более выраженную степень бионакопления и токсические свойства в сравнении с МЧ.

Степень бионакопления НЧ и МЧ CuO при однократной ингаляционной экспозиции по увеличению концентрации меди в легких крыс сопоставима, что, вероятно, обусловлено недостаточным временем экспозиции. Подтверждением этого являются результаты исследования бионакопления при многократной экспозиции. Продемонстрировано повышенное содержание меди в легких при экспозиции НЧ в сравнении с микроразмерным химическим аналогом. Схожие изменения наблюдаются в исследовании, проведенном другими авторами, на мышах. В эксперименте зафиксировано увеличение концентрации изучаемого химического элемента в легких на протяжении воздействия НЧ CuO [17]. Поступившие в легкие НЧ способны путем трансцитоза преодолевать эпителий дыхательных путей, проникая в интерстиций и получая доступ к кровообращению напрямую или через лимфатические сосуды, что позволяет им распространяться к различным органам и тканям организма [18]. В связи с этим можно предположить, что НЧ CuO обладают большей степенью токсичности относительно МЧ. Это подтверждается целенаправленным воздействием на легкие при интратрахеальном введении веществ, по результатам которого НЧ CuO оказывают большее влияние на состав клеточной популяции в сравнении с МЧ, что проявляется в большем относительном числе альвеолярных макрофагов и меньшем числе моноцитов и лимфоцитов. В целом увеличение содержания альвеолярных макрофагов и сегментоядерных нейтрофилов, наблюдаемое при экспозиции НЧ, характерно для развития нейтрофильного варианта острой воспалительной реакции<sup>6</sup> [19, 20]. Это может спровоцировать развитие воспаления тканей легких и бронхов при многократной ингаляционной экспозиции в виде пневмонии, бронхита и васкулитов. Предположительно, механизм развития воспалительной реакции связан

с окислительным стрессом, инициированным воздействием внутриклеточных свободных радикалов, генерации которых способствуют НЧ CuO [13, 21, 22]. Результатом данного процесса является увеличение активности провоспалительных цитокинов, запускающих воспалительную реакцию [23]. Воспалительный процесс в легких сопровождается гиперплазией лимфоидной ткани [24, 25]. В составе клеточной популяции жидкости бронхоальвеолярного лаважа при воздействии НЧ CuO наблюдается более выраженное уменьшение соотношения сегментоядерных нейтрофилов к альвеолярным макрофагам по сравнению с воздействием микроразмерного химического аналога. Данное отличие обусловлено возрастающим относительным числом альвеолярных макрофагов при одинаковой доле нейтрофилов. Известно, что число альвеолярных макрофагов зависит от количества попавших в легкие частиц, и при равной дозе оно тем выше, чем меньше диаметр частиц<sup>7</sup>. В связи с этим при поступлении в легкие меньших по размеру НЧ организму необходимо повысить эффективность механизма клиренса, что происходит за счет усиленной мобилизации альвеолярных макрофагов и нейтрофилов. Кроме этого, увеличение числа данных клеток позволяет распределить цитотоксическую нагрузку за счет снижения числа поглощенных частиц одной клеткой<sup>7</sup>.

Большая степень токсичности НЧ CuO в сравнении с МЧ подтверждается при многократной ингаляционной экспозиции. В легких крыс, экспонированных наноматериалом, отмечено развитие эмфиземы, скопления эритроцитов в просвете альвеол и отек, не обнаруженные при воздействии микроматериала. Выявление эмфиземы согласуется с результатами исследования, проведенного ранее на крысах другим коллективом авторов, в ходе которого животных подвергали ингаляционному воздействию исследуемого наноматериала только через нос [26]. Развитие данной патологии характерно при повышенной активности альвеолярных макрофагов и нейтрофилов в ткани легких [27, 28]. Из азурофильных гранул нейтрофила во внеклеточное пространство высвобождаются сериновые протеазы, в том числе нейтрофильная эластаза и протеиназа 3, которые вызывают повреждение тканей [28]. Альвеолярный отек, сопровождающийся экссудацией крови в просвет альвеол, может являться результатом нарушения нормальной циркуляции крови [29], вызванного ухудшением проходимости сосудов, обусловленным изменением метаболических процессов [30]. Выявленные патоморфологические изменения сопровождаются снижением массы легких. В источниках научной литературы не обнаружено информации о влиянии НЧ CuO на массу органов при ин-

<sup>6</sup> Hawkins E.C., DeNicola D.B., Kuehn N.F. Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease in the dog and cat. State of the art // J. Vet. Intern. Med. – 1990. – Vol. 4, № 5. – P. 267–274. DOI: 10.1111/j.1939-1676.1990.tb03120.x

<sup>7</sup> Пневмоконнозы: патогенез и биологическая профилактика / Б.А. Кацнельсон, О.Г. Алексеева, Л.И. Привалова, Е.В. Ползик. – Екатеринбург: УрО РАН, 1995. – 328 с.

галяционном пути поступления, однако данный аспект изучен при многократной пероральной экспозиции крыс. По результатам исследования [31] масса легких, подверженных воспалительным изменениям, снижается относительно контрольных значений параметра.

**Выводы.** Согласно результатам выполненных исследований, НЧ CuO при острой и субхронической ингаляционной экспозиции в концентрациях ~ 4 и 1,2–1,4 мг/м<sup>3</sup> соответственно накапливаются в легких. При однократном поступлении в организм НЧ и МЧ обладают сопоставимой степенью бионакопления, что, вероятно, обусловлено недостаточным временем воздействия. Это подтверждено субхронической ингаляционной экспозицией, при которой НЧ проявляют большую степень бионакопления в легких в сравнении с МЧ, что отмечено по большему содержанию меди в 1,45 раза. НЧ CuO обладают большей степенью токсичности для органов

дыхания относительно МЧ. Доказательством этого является более выраженное развитие воспалительной реакции, установленное по изменению состава клеточной популяции в жидкости БАЛЖ. Более выраженное токсическое действие НЧ CuO на ткань легких подтверждается появлением эмфиземы, отека, скоплением эритроцитов в альвеолах при субхронической ингаляционной экспозиции, что нехарактерно при воздействии МЧ. Полученные результаты необходимо учитывать при разработке мер, направленных на профилактику развития негативных эффектов со стороны органов дыхания (легкие) при ингаляционной экспозиции изучаемым наноматериалом.

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

**Конфликт интересов.** Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

1. Mobasser S., Firoozi A.A. Review of nanotechnology applications in science and engineering // J. Civil Eng. Urban. – 2017. – Vol. 6, № 4. – P. 84–93.
2. Khan I., Saeed K., Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities // Arabian Journal of Chemistry. – 2019. – Vol. 12, № 7. – P. 908–931. DOI: 10.1016/j.arabj.2017.05.011
3. Зайцева Н.В., Землянова М.А. Гигиеническая индикация последствий для здоровья при внешнесредовой экспозиции химических факторов: монография / под ред. Г.Г. Онищенко. – Пермь: Книжный формат, 2011. – 532 с.
4. Золина Л.И., Грачёва К.О. Физико-химические и биохимические свойства металлических наночастиц и их применение // Industrial Processes and Technologies. – 2022. – Т. 2, № 1. – С. 29–38. DOI: 10.37816/2713-0789-2022-2-1-29-38
5. Ковалёва Н.Ю., Раевская Е.Г., Рощин А.В. Проблемы безопасности наноматериалов: нанобезопасность, нанотоксикология, наноинформатика // Химическая безопасность. – 2017. – Т. 1, № 2. – С. 44–87. DOI: 10.25514/CHS.2017.2.10982
6. Global nano copper oxide market report 2022 to 2027: industry trends, share, size, growth, opportunities and forecasts [Электронный ресурс] // Research and Markets. – URL: <https://www.globenewswire.com/news-release/2022/12/23/2579082/0/en/Global-Nano-Copper-Oxide-Market-Report-2022-to-2027-Industry-Trends-Share-Size-Growth-Opportunities-and-Forecasts.html> (дата обращения: 30.08.2023).
7. Synthesis, biomedical applications, and toxicity of CuO nanoparticles / S. Naz, A. Gul, M. Zia, R. Javed // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2023. – Vol. 107. – P. 1039–1061. DOI: 10.1007/s00253-023-12364-z
8. Vats M., Bhardwaj S., Chhabra A. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Cucumis sativus* (Cucumber) extracts and their bio-physical and biochemical characterization for cosmetic and dermatologic applications // Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets. – 2021. – Vol. 21, № 4. – P. 726–733. DOI: 10.2174/1871530320666200705212107
9. Copper oxide nanoparticle effects on root growth and hydraulic conductivity of two vegetable crops / A.J. Margenot, D.A. Rippper, M.R. Dumlao, S. Nezami, P.G. Green, S.J. Parikh, A.J. McElrone // Plant Soil. – 2018. – Vol. 431. – P. 333–345. DOI: 10.1007/s11104-018-3741-3
10. Larvicidal and antifeedant effects of copper nano-pesticides against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) and its immunological response / A. Rahman, S. Pittarate, V. Perumal, J. Rajula, M. Thungrabeab, S. Mekchay, P. Krutmuang // Insects. – 2022. – Vol. 13, № 11. – P. 1030. DOI: 10.3390/insects13111030
11. Nano-sized copper oxide enhancing the combustion of aluminum/kerosene-based nanofluid fuel droplets / W. Chen, B. Zhu, Y. Sun, P. Guo, J. Liu // Combustion and Flame. – 2022. – Vol. 240. – P. 112028. DOI: 10.1016/j.combustflame.2022.112028
12. Rita A., Sivakumar A., Martin Britto Dhas S.A. Influence of shock waves on structural and morphological properties of copper oxide NPs for aerospace applications // J. Nanostruct. Chem. – 2019. – Vol. 9. – P. 225–230. DOI: 10.1007/s40097-019-00313-0
13. Nano-copper induces oxidative stress and apoptosis in kidney via both extrinsic and intrinsic pathways / A. Sarkar, J. Das, P. Manna, P.C. Sil // Toxicology. – 2011. – Vol. 290, № 2–3. – P. 208–217. DOI: 10.1016/j.tox.2011.09.086
14. SILAC-based quantitative proteomic analysis of human lung cell response to copper oxide nanoparticles / M.J. Edelmann, L.A. Shack, C.D. Naske, K.B. Walters, B. Nanduri // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, № 12. – P. e114390. DOI: 10.1371/journal.pone.0114390
15. Copper oxide nanoparticles: In vitro and in vivo toxicity, mechanisms of action and factors influencing their toxicology / H. Sajjad, A. Sajjad, R.T. Haya, M.M. Khan, M. Zia // Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. – 2023. – Vol. 271. – P. 109682. DOI: 10.1016/j.cbpc.2023.109682
16. Transformation of CuO nanoparticles in the aquatic environment: influence of pH, electrolytes and natural organic matter / C. Peng, C. Shen, S. Zheng, W. Yang, H. Hu, J. Liu, J. Shi // Nanomaterials (Basel). – 2017. – Vol. 7, № 10. – P. 326. DOI: 10.3390/nano7100326
17. Time course of pulmonary inflammation and trace element biodistribution during and after sub-acute inhalation exposure to copper oxide nanoparticles in a murine model / S. Arecheewakul, A. Adamcakova-Dodd, E. Haque, X. Jing, D.K. Meyerholz, P.T. O'Shaughnessy, P.S. Thorne, A.K. Salem // Part. Fibre Toxicol. – 2022. – Vol. 19, № 1. – P. 40. DOI: 10.1186/s12989-022-00480-z
18. Oberdoster G., Oberdoster E., Oberdoster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles // Environ. Health Perspect. – 2005. – Vol. 113, № 7. – P. 823–839. DOI: 10.1289/ehp.7339

19. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. – М.: Медицина, 2006. – 544 с.
20. Stanzel F. Bronchoalveolar Lavage // In book: Principles and Practice of Interventional Pulmonology / ed. by A. Ernst, F.J.F. Herth. – New York: Springer, 2013. – P. 165–176. DOI: 10.1007/978-1-4614-4292-9\_16
21. Anreddy R.N.R. Copper oxide nanoparticles induces oxidative stress and liver toxicity in rats following oral exposure // Toxicol. Rep. – 2018. – Vol. 5. – P. 903–904. DOI: 10.1016/j.toxrep.2018.08.022
22. Hormesis Effects of Nano- and Micro-sized Copper Oxide / M. Keshavarzi, F. Khodaei, A. Siavashpour, A. Saedi, A. Mohammadi-Bardbori // Iran. J. Pharm. Res. – 2019. – Vol. 18, № 4. – P. 2042–2054. DOI: 10.22037/ijpr.2019.13971.12030
23. Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS) / A.C. Bulua, A. Simon, R. Maddipati, M. Pelletier, H. Park, K.-Y. Kim, M.N. Sack, D.L. Kastner, R.M. Siegel // J. Exp. Med. – 2011. – Vol. 208, № 3. – P. 519–533. DOI: 10.1084/jem.20102049
24. Khatami M. Developmental phases of inflammation-induced massive lymphoid hyperplasia and extensive changes in epithelium is an experimental model of allergy: implications for a direct link between inflammation and carcinogenesis // Am. J. Ther. – 2005. – Vol. 12, № 2. – P. 117–126. DOI: 10.1097/01.mjt.0000143699.91156.21
25. Самсонова М.В., Черняев А.Л. Первичные лимфоидные поражения лёгких // Практическая пульмонология. – 2016. – № 3. – С. 71–75.
26. Organ burden and pulmonary toxicity of nano-sized copper (II) oxide particles after short-term inhalation exposure / I. Gosens, F.R. Cassee, M. Zanella, L. Manodori, A. Brunelli, A.L. Costa, B.G.H. Bokkers, W.H. de Jong [et al.] // Nanotoxicology. – 2016. – Vol. 10, № 8. – P. 1084–1095. DOI: 10.3109/17435390.2016.1172678
27. Goldklang M., Stockley R. Pathophysiology of Emphysema and Implications // Chronic Obstr. Pulm. Dis. – 2016. – Vol. 3, № 1. – P. 454–458. DOI: 10.15326/jcopdf.3.1.2015.0175
28. Understanding the role of neutrophils in chronic inflammatory airway disease / A.E. Jasper, W.J. McIver, E. Sapey, G.M. Walton // F1000 Res. – 2019. – Vol. 8. – P. 557. DOI: 10.12688/f1000research.18411.1
29. Pulmonary infarction in acute pulmonary embolism / F.H.J. Kaptein, L.J.M. Kroft, G. Hammerschlag, M.K. Ninamber, M.P. Bauer, M.V. Huisman, F.A. Klok // Thromb. Res. – 2021. – Vol. 202. – P. 162–169. DOI: 10.1016/j.thromres.2021.03.022
30. Pulmonary vascular dysfunction in metabolic syndrome / C. Willson, M. Watanabe, A. Tsuji-Hosokawa, A. Makino // J. Physiol. – 2019. – Vol. 597, № 4. – P. 1121–1141. DOI: 10.1113/JP275856
31. Features of Bioaccumulation and Toxic Effects of Copper (II) Oxide Nanoparticles Under Repeated Oral Exposure in Rats / M.S. Stepankov, M.A. Zemlyanova, N.V. Zaitseva, A.M. Ignatova, A.E. Nikolaeva // Pharm. Nanotechnol. – 2021. – Vol. 9, № 4. – P. 288–297. DOI: 10.2174/2211738509666210728163901

*Степанков М.С. Оценка особенностей бионакопления и токсического действия наночастиц оксида меди (II) на органы дыхания при ингаляционном поступлении в организм в сравнении с микроразмерным химическим аналогом для задач профилактики // Анализ риска здоровью. – 2023. – № 4. – С. 124–133. DOI: 10.21668/health.risk/2023.4.12*

UDC 613.632.2; 546.562; 615.916  
DOI: 10.21668/health.risk/2023.4.12.eng



Research article

## **PECULIARITIES OF BIOACCUMULATION AND TOXIC EFFECTS PRODUCED BY COPPER OXIDE (II) NANOPARTICLES ON THE RESPIRATORY ORGANS UNDER INHALATION EXPOSURE AS OPPOSED TO THEIR MICRO-SIZED CHEMICAL ANALOGUE: ASSESSMENT FOR PREVENTION PURPOSES**

**M.S. Stepankov**

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya St., Perm, 614045, Russian Federation

*At present, it is quite relevant to get better insight into parameters and peculiarities of deleterious effects produced by copper oxide nanoparticles (CuO NPs) on the respiratory organs under inhalation exposure. This will help develop more effective prevention measures.*

© Stepankov M.S., 2023

**Mark S. Stepankov** – Junior Researcher at the Laboratory of Biochemical and Nanosensor Diagnostics (e-mail: stepankov@ferisk.ru; tel.: +7 (342) 237-18-15; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7226-7682>).

The aim of this study was to assess peculiarities of bioaccumulation and toxic effects produced by CuO NPs on the respiratory organs as opposed to their micro-sized analogue in experimental modeling of inhalation exposure for prevention purposes.

We established physical properties of the tested materials. Experimental studies were accomplished on Wistar rats. The experimental animals underwent a single 4-hour inhalation exposure to a concentration of  $\sim 4 \text{ mg/m}^3$ ; a subchronic inhalation exposure to a concentration of  $1.2\text{--}1.4 \text{ mg/m}^3$ ; a single intratracheal exposure to a dose of 0.005 grams per one rat. We examined peculiarities of NPs bioaccumulation, their influence on the cellular population of the bronchoalveolar lavage fluid (BALF), development of pathomorphological disorders in tissues, and the lung mass in comparison with the micro-sized analogue.

CuO NPs, as opposed to their micro-sized analogue, are smaller in size, have smaller hydrodynamic diameters, greater specific surface area and greater total pore volume; these properties determine their greater permeability. Bioaccumulation in the lungs, which was identified for NPs and MPs, is comparable under a single inhalation exposure. Under chronic exposure, NPs tend to bioaccumulate more intensively. A single intratracheal exposure induces more apparent changes in the BALF cellular population. Exposure to NPs causes emphysema, edema, and erythrocyte exudation in the lungs whereas these effects are not identified under exposure to MPs.

Therefore, CuO NPs tend to accumulate more intensively and have more deleterious toxic effects on the respiratory organs (the lungs) than their micro-sized chemical analogue under a single intratracheal exposure (0.005 grams per one rat) and subchronic inhalation exposure ( $1.2 \text{ mg/m}^3$ ). The study results should be considered when developing activities aimed at preventing negative health outcomes in the respiratory organs under inhalation exposure to the analyzed nanomaterial.

**Keywords:** copper (II) oxide, nanoparticles, microparticles, inhalation exposure, bioaccumulation, toxic effect, cellular phagocytic activity, Wistar rats.

## References

1. Mobasser S., Firoozi A.A. Review of nanotechnology applications in science and engineering. *J. Civil Eng. Urban.*, 2017, vol. 6, no. 4, pp. 84–93.
2. Khan I., Saeed K., Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019, vol. 12, no. 7, pp. 908–931. DOI: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011
3. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A. Identification of health effects caused by environmental chemical exposure. In: G.G. Onishchenko ed. Perm, Knizhnyi format, 2011, 532 p. (in Russian).
4. Zolina L.I., Gracheva K.O. Physicochemical and biochemical properties of metallic nanoparticles and their applications. *Industrial Processes and Technologies*, 2022, vol. 2, no. 1, pp. 29–38. DOI: 10.37816/2713-0789-2022-2-1-29-38 (in Russian).
5. Kovaleva N.Yu., Raevskaya E.G., Roshchin A.V. Aspects of nanomaterial safety: nanosafety, nanotoxicology, nanoinformatics. *Khimicheskaya bezopasnost'*, 2017, vol. 1, no. 2, pp. 44–87. DOI: 10.25514/CHS.2017.2.10982 (in Russian).
6. Global nano copper oxide market report 2022 to 2027: industry trends, share, size, growth, opportunities and forecasts. *Research and Markets*. Available at: <https://www.globenewswire.com/news-release/2022/12/23/2579082/0/en/Global-Nano-Copper-Oxide-Market-Report-2022-to-2027-Industry-Trends-Share-Size-Growth-Opportunities-and-Forecasts.html> (August 30, 2023).
7. Naz S., Gul A., Zia M., Javed R. Synthesis, biomedical applications, and toxicity of CuO nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2023, vol. 107, pp. 1039–1061. DOI: 10.1007/s00253-023-12364-z
8. Vats M., Bhardwaj S., Chhabra A. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Cucumis sativus* (Cucumber) extracts and their bio-physical and biochemical characterization for cosmetic and dermatologic applications. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*, 2021, vol. 21, no. 4, pp. 726–733. DOI: 10.2174/1871530320666200705212107
9. Margenot A.J., Rippner D.A., Dumlao M.R., Nezami S., Green P.G., Parikh S.J., McElrone A.J. Copper oxide nanoparticle effects on root growth and hydraulic conductivity of two vegetable crops. *Plant Soil*, 2018, vol. 431, pp. 333–345. DOI: 10.1007/s11104-018-3741-3
10. Rahman A., Pittarate S., Perumal V., Rajula J., Thungrabeab M., Mekchay S., Krutmuang P. Larvicidal and antifeedant effects of copper nano-pesticides against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) and its immunological response. *Insects*, 2022, vol. 13, no. 11, pp. 1030. DOI: 10.3390/insects13111030
11. Chen W., Zhu B., Sun Y., Guo P., Liu J. Nano-sized copper oxide enhancing the combustion of aluminum/kerosene-based nanofluid fuel droplets. *Combustion and Flame*, 2022, vol. 240, pp. 112028. DOI: 10.1016/j.combustflame.2022.112028
12. Rita A., Sivakumar A., Martin Britto Dhas S.A. Influence of shock waves on structural and morphological properties of copper oxide NPs for aerospace applications. *J. Nanostruct. Chem.*, 2019, vol. 9, pp. 225–230. DOI: 10.1007/s40097-019-00313-0
13. Sarkar A., Das J., Manna P., Sil P.C. Nano-copper induces oxidative stress and apoptosis in kidney via both extrinsic and intrinsic pathways. *Toxicology*, 2011, vol. 290, no. 2–3, pp. 208–217. DOI: 10.1016/j.tox.2011.09.086
14. Edelmann M.J., Shack L.A., Naske C.D., Walters K.B., Nanduri B. SILAC-based quantitative proteomic analysis of human lung cell response to copper oxide nanoparticles. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 12, pp. e114390. DOI: 10.1371/journal.pone.0114390
15. Sajjad H., Sajjad A., Haya R.T., Khan M.M., Zia M. Copper oxide nanoparticles: In vitro and in vivo toxicity, mechanisms of action and factors influencing their toxicology. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 2023, vol. 271, pp. 109682. DOI: 10.1016/j.cbpc.2023.109682
16. Peng C., Shen C., Zheng S., Yang W., Hu H., Liu J., Shi J. Transformation of CuO nanoparticles in the aquatic environment: influence of pH, electrolytes and natural organic matter. *Nanomaterials (Basel)*, 2017, vol. 7, no. 10, pp. 326. DOI: 10.3390/nano7100326

17. Areecheewakul S., Adamcakova-Dodd A., Haque E., Jing X., Meyerholz D.K., O'Shaughnessy P.T., Thorne P.S., Salem A.K. Time course of pulmonary inflammation and trace element biodistribution during and after sub-acute inhalation exposure to copper oxide nanoparticles in a murine model. *Part. Fibre Toxicol.*, 2022, vol. 19, no. 1, pp. 40. DOI: 10.1186/s12989-022-00480-z
18. Oberdoster G., Oberdoster E., Oberdoster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ. Health Perspect.*, 2005, vol. 113, no. 7, pp. 823–839. DOI: 10.1289/ehp.7339
19. Nazarenko G.I., Kishkun A.A. Klinicheskaya otsenka rezul'tatov laboratornykh issledovaniy [Clinical estimation of laboratory results]. Moscow, Meditsina, 2006, 544 p. (in Russian).
20. Stanzel F. Bronchoalveolar Lavage. In book: Principles and Practice of Interventional Pulmonology. In: A. Ernst, F.J.F. Herth eds. New York, Springer, 2013, pp. 165–176. DOI: 10.1007/978-1-4614-4292-9\_16
21. Anreddy R.N.R. Copper oxide nanoparticles induces oxidative stress and liver toxicity in rats following oral exposure. *Toxicol. Rep.*, 2018, no. 5, pp. 903–904. DOI: 10.1016/j.toxrep.2018.08.022
22. Keshavarzi M., Khodaei F., Siavashpour A., Saeedi A., Mohammadi-Bardbori A. Hormesis Effects of Nano- and Micro-sized Copper Oxide. *Iran. J. Pharm. Res.*, 2019, vol. 18, no. 4, pp. 2042–2054. DOI: 10.22037/ijpr.2019.13971.12030
23. Bulua A.C., Simon A., Maddipati R., Pelletier M., Park H., Kim K.-Y., Sack M.N., Kastner D.L., Siegel R.M. Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *J. Exp. Med.*, 2011, vol. 208, no. 3, pp. 519–533. DOI: 10.1084/jem.20102049
24. Khatami M. Developmental phases of inflammation-induced massive lymphoid hyperplasia and extensive changes in epithelium is an experimental model of allergy: implications for a direct link between inflammation and carcinogenesis. *Am. J. Ther.*, 2005, vol. 12, no. 2, pp. 117–126. DOI: 10.1097/01.mjt.0000143699.91156.21
25. Samsonova M.V., Chernyaev A.L. Primary lymphoid lung lesions. *Prakticheskaya pul'monologiya*, 2016, no. 3, pp. 71–75 (in Russian).
26. Gosens I., Cassee F.R., Zanella M., Manodori L., Brunelli A., Costa A.L., Bokkers B.G.H., de Jong W.H. [et al.]. Organ burden and pulmonary toxicity of nano-sized copper (II) oxide particles after short-term inhalation exposure. *Nanotoxicology*, 2016, vol. 10, no. 8, pp. 1084–1095. DOI: 10.3109/17435390.2016.1172678
27. Goldklang M., Stockley R. Pathophysiology of Emphysema and Implications. *Chronic Obstr. Pulm. Dis.*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 454–458. DOI: 10.15326/jcopdf.3.1.2015.0175
28. Jasper A.E., Melver W.J., Sapoy E., Walton G.M. Understanding the role of neutrophils in chronic inflammatory airway disease. *F1000 Res.*, 2019, vol. 8, pp. 557. DOI: 10.12688/f1000research.18411.1
29. Kaptein F.H.J., Kroft L.J.M., Hammerschlag G., Ninamber M.K., Bauer M.P., Huisman M.V., Klok F.A. Pulmonary infarction in acute pulmonary embolism. *Thromb. Res.*, 2021, vol. 202, pp. 162–169. DOI: 10.1016/j.thromres.2021.03.022
30. Willson C., Watanabe M., Tsuji-Hosokawa A., Makino A. Pulmonary vascular dysfunction in metabolic syndrome. *J. Physiol.*, 2019, vol. 597, no. 4, pp. 1121–1141. DOI: 10.1113/JP275856
31. Stepankov M.S., Zemlyanova M.A., Zaitseva N.V., Ignatova A.M., Nikolaeva A.E. Features of Bioaccumulation and Toxic Effects of Copper (II) Oxide Nanoparticles Under Repeated Oral Exposure in Rats. *Pharm. Nanotechnol.*, 2021, vol. 9, no. 4, pp. 288–297. DOI: 10.2174/22117385096662107281639011

Stepankov M.S. Peculiarities of bioaccumulation and toxic effects produced by copper oxide (II) nanoparticles on the respiratory organs under inhalation exposure as opposed to their micro-sized chemical analogue: assessment for prevention purposes. *Health Risk Analysis*, 2023, no. 4, pp. 124–133. DOI: 10.21668/health.risk/2023.4.12.eng

Получена: 20.08.2023

Одобрена: 23.10.2023

Принята к публикации: 20.12.2023