

© РУЗАКОВ В.О.

Читать
онлайн
Read
online

Рузаков В.О.

Биологические эффекты воздействия наночастиц меди: маркёры экспозиции

ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 620014, Екатеринбург, Россия

Введение. Наночастицы, содержащиеся в воздушных аэрозолях на действующих металлургических предприятиях, являются требующим изучения значимым фактором риска.

Цель работы – изучение биологических эффектов воздействия наночастиц меди в сравнении с микрочастицами, выявление возможных маркёров экспозиции.

Материалы и методы. Оценка в субхроническом эксперименте по внутрибрюшинной заправке на крысах (3 группы сравнения по 12 животных, экспонированных к наночастицам, микрочастицам, и контроль с водой), изменения биохимических показателей и изменения со стороны тканей и органов. Выявление при периодических медицинских осмотрах работников, экспонированных к медьсодержащим аэрозолям различного дисперсного состава. Определение возможных эффектов воздействия по изменению биохимических показателей с проведением дополнительных лабораторно-инструментальных исследований.

Результаты. В эксперименте на животных выявлено более существенное воздействие наночастиц (НЧ), проявившееся в печени угнетением репаративного деления гепатоцитов (отражаемое числом двуядерных клеток) и повышением числа клеток Купфера (тканевых макрофагов), а в почках – более выраженной потерей щётчатой каёмки эпителия извитых канальцев. В головном мозге обнаружены патологические изменения нейронов ганглиозного слоя коры и базальных ядер, возникшие под влиянием НЧ и МЧ. Показано, что в условиях воздействия аэрозолей меди с повышением доли наночастиц в общей массе аэрозоля у работников основных профессий металлургического производства отмечается достоверное нарастание концентрации церулоплазмينا в крови.

Ограничения исследования. Были проведены оценка результатов воздействия наночастиц меди в составе аэрозоля на здоровье 224 работников предприятия по переработке меди и эксперимент по воздействию наночастиц меди на 36 животных, что представляет собой достаточную референтную выборку.

Заключение. Особенности воздействия наночастиц требуют пересмотра подходов к нормированию аэрозолей с учётом их дисперсного состава.

Ключевые слова: наночастицы; медь; церулоплазмин; аэрозоли

Соблюдение этических стандартов. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей»; Национальным стандартом РФ ГОСТ Р 52379–2005. Надлежащая клиническая практика (утв. приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 сентября 2005 г. № 232-ст); Стандартом отрасли ОСТ 42–511–99 «Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации» от 29.12.1998 г.; Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123); директивой Европейского Парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей. Исследование соответствует всем действующим нормативно-правовым документам, регламентирующим проведение биомедицинских исследований с участием человека и животных.

Для цитирования: Рузаков В.О. Биологические эффекты воздействия наночастиц меди: маркёры экспозиции. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(3): 292–298. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-3-292-298> <https://elibrary.ru/ieywoj>

Для корреспонденции: Рузаков Вадим Олегович, помощник директора ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург. E-mail: ruzakov@ymrc.ru

Благодарности. Автор выражает благодарность [Кацнельсону Б.А.] доктору мед. наук, профессору; Сутунковой М.П., доктору мед. наук, директору ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора; Гурвичу В.Б., доктору мед. наук, науч. рук. ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора; Логиновой Н.В., науч. сотр. отд. токсикологии и биопрофилактики; Минигалиевой И.А., доктору биол. наук, зав. отд. токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора; Шуру В.Я., доктору. физ.-мат. наук, директору УЦКП СН; Гребенкиной С.В., начальнику отд. контроля качества ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 16.02.2023 / Принята к печати: 24.03.2023 / Опубликована: 20.04.2023

Vadim O. Ruzakov

Biological effects of exposure to copper nanoparticles: markers of exposure

Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumer Protection and Human Welfare, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation

Introduction. Aerosol nanoparticles at operating metallurgical plants are potent of the significant risk factor that needs to be studied.

The purpose of the work was to study biological effects of exposure to copper nanoparticles compared to microparticles and identify potential markers of the exposure.

Materials and methods. Two experimental groups of rats, twelve animals each, were subchronically exposed to copper-containing nanoparticles and microparticles injected intraperitoneally. Changes in their biochemical parameters, tissues, and organs were then compared to those in the control rats administered with deionized water. During periodic medical examinations of workers occupationally exposed to copper-containing aerosols with different particle size distribution, additional laboratory and instrumental methods of testing were used to identify possible exposure effects to health manifested by changes in biochemical parameters.

Results. The experimental study showed that in liver, the exposure to copper nanoparticles, compared to microparticles, induced a more significant inhibition of replication of hepatocytes in regeneration, as demonstrated by the number of binuclear cells, and an increase in the number of Kupffer cells (tissue macrophages), while in kidney, it caused a more pronounced convoluted tubule brush border loss. The exposure to both micro- and nano-sized copper particles was found to

induce pathological changes in neurons of the ganglionic layer of the cortex and basal nuclei. Test results showed a significant increase in the blood concentration of ceruloplasmin in the core personnel of the metallurgical plant following the exposure to copper aerosols rich in nanoparticles.

Limitations. The assessment of the results of the impact of copper nanoparticles in the composition of the aerosol on the health of 224 employees of the enterprise and the results of the experiment obtained on 36 animals corresponded to the current social and ethical standards and norms.

Conclusion. Specifics of the exposure to nanoparticles require a revision of approaches to regulating aerosols with account for particle size distribution.

Keywords: nanoparticles; copper; ceruloplasmin; aerosols

Compliance with ethical standards. The study was approved by the Local Ethics Committee of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers and conducted in compliance with the World Medical Association Declaration of Helsinki, Recommendations Guiding Physicians Involved in Biomedical Research Involving Human Subjects (National Standard of the Russian Federation GOST R 52379-2005, Good Clinical Practice (GCP), approved by Order No. 232-st of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology on September 27, 2005; Industry Standard OST 42-511-99, Rules for Conducting High-Quality Clinical Trials in the Russian Federation, dated December 29, 1998); the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or other Scientific Purposes (ETS No. 123), Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes, and other legal documents regulating the conduct of biomedical research involving human and animals.

For citation: Ruzakov V.O. Biological effects of exposure to copper nanoparticles: markers of exposure. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(3): 292-298. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-3-292-298> <https://elibrary.ru/ieywoj> (In Russian)

For correspondence: Vadim O. Ruzakov, Assistant Director, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumer Protection and Human Welfare, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: ruzakov@ymrc.ru

Information about author: Ruzakov V.O., <https://orcid.org/0000-0002-8902-0416>

Acknowledgements. The author would like to express his sincere gratitude to Prof. [Boris A. Katsnelson], Marina P. Sutunkova, DSci. (Med.), Director of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers; Vladimir B. Gurvich, Dr. Sci. (Med.), Scientific Director of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers; Nadezhda V. Loginova, Researcher, Department of Toxicology and Bioprophylaxis; Ilzira A. Minigalieva, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Department of Toxicology and Bioprophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers; Dr. Vladimir Ya. Shur, Dr. Sci. (Phys.-Math.), Director of the Ural Center for Shared Use "Modern Nanotechnologies", and Svetlana V. Grebenkina, Head of the Quality Control Department, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Financing. The study had no sponsorship.

Received: February 6, 2022 / Accepted: March 24, 2023 / Published: April 20, 2023

Введение

Развитие нанотехнологий – одно из наиболее значимых направлений современной науки и экономики. Технологические процессы, связанные с производством и использованием новых материалов, несут в себе определённые риски, что вызывает интерес научного сообщества и является предметом изучения [1]. Наночастицы – сопутствующий фактор уже существующих и широко развитых промышленных технологий. Например, пирометаллургия, как и любая обработка материалов, сопровождаемая эффектами дезинтеграции и конденсации материалов из жидкой и газовой фазы, характеризуется образованием наночастиц [2, 3]. Важной задачей является изучение токсикологических свойств промышленных аэрозолей, содержащих наночастицы металлов [8–17]. В металлургическую отрасль Российской Федерации входят свыше четырёх тысяч предприятий и организаций, которые обеспечивают рабочими местами более 450 тыс. человек. Поскольку медь является одним из наиболее распространённых в реальном секторе экономики промышленных металлов, требуется изучение влияния наночастиц меди в составе аэрозолей на рабочих местах предприятий цветной металлургии [11–16, 21]. Технологические процессы переработки меди имеют особенности, определяющие дисперсный и химический состав металлургических аэрозолей и оказывающие влияние на развитие и течение профессиональной патологии у находящихся под их воздействием лиц [11]. В связи с этим необходимо изучение условий труда находящихся под воздействием наночастиц работников, развитие технологий оценки риска для их здоровья, совершенствование гигиенических нормативов, исследование свойств наночастиц и биологических эффектов от их воздействия [4–7].

С учётом установленной более высокой токсичности наночастиц различных металлов по сравнению с микрочастицами, подтверждённой и специалистами ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, необходимо дальнейшее изучение воздействия данного фактора производственной среды на здоровье работающих [17]. В связи с вышеизложенным целью данной работы является изучение биологических эффектов воздействия наночастиц меди в сравнении с микрочастицами, выявление возможных маркёров экспозиции.

Материалы и методы

Для выбора предприятий, на которых изучали влияние медьсодержащих аэрозолей, применяли следующие критерии: промышленный объект, основным видом деятельности которого является переработка медьсодержащего сырья и меди; наличие технологических процессов с возможным образованием как наночастиц меди, так и частиц с размерностью более 100 нм; единый источник сырья для всех процессов; единые подходы к реализации системы охраны труда на предприятиях, выбору и обеспечению средствами коллективной и индивидуальной защиты, мониторингу фактов производственной среды и трудового процесса; возможность медицинского обследования работников с получением биологических материалов. Для исследования были выбраны два предприятия, расположенные на одной промышленной площадке и работающие в едином технологическом цикле: ОАО «Уралэлектромедь» (осуществляет весь производственный цикл от переработки черновой меди и лома до выпуска продуктов из меди, производит катодную медь, соответствующую марке М00К по российскому ГОСТу и марке Cu-Cath-1 по европейскому стандарту EN 1978:1998№) и АО «Катур-Инвест», включённый в настоящий момент в состав ОАО «Уралэлектромедь» как цех медной катанки (производитель медной катанки, проволоки медной круглой электротехнической, провода медного неизолированного гибкого и жилы токопроводящей медной). В структуре ОАО «Уралэлектромедь» были выбраны производства черновой меди: пирометаллургический передел медного сырья, характеризующийся образованием аэрозоля конденсации сложного химического состава, и цех производства медных порошков, характеризующийся образованием аэрозолей дезинтеграции из химически чистой (катодной) меди. Производство, относящееся к АО «Катур-Инвест», осуществляет плавку и переработку химически чистой (катодной) меди и характеризуется выделением аэрозолей конденсации в воздух рабочей зоны.

Был определён перечень рабочих мест, которые, по нашему мнению, должны были различаться в силу специфики технологических процессов как химическим составом аэрозолей, так и уровнем содержания частиц нанометрового

диапазона: рабочее место разлищика и плавильщика при плавке черновой меди (аэрозоли конденсации), рабочее место плавильщика при производстве катанки из катодной меди (аэрозоли конденсации), рабочее место оператора узла упаковки (затарки) при производстве медных порошков (аэрозоли дезинтеграции).

Отбор проб воздуха для определения массовой концентрации пыли проводили согласно МУК 4.1.2468–09 «Измерение массовых концентраций пыли в воздухе рабочей зоны предприятий горнорудной и нерудной промышленности», ГОСТ 12.1.005–88 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны» и Р.2.2.2006–05 «Гигиена труда. Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда».

Для анализа состава аэрозолей применяли следующие методы:

1) гравиметрический метод определения общей массы аэрозоля (диапазон измерений массовых концентраций пыли от 1,0 до 250,0 мг/м³);

2) метод лазерной нефелометрии для определения массовой концентрации пыли в стандартах РМ (Particulate – взвешенные частицы). Классификация частиц пыли от их размера: РМ₁ – размер частиц от 1 мкм и менее (в диапазоне размеров РМ₁ входят в том числе ультратонкие частицы до 0,1 мкм); РМ_{2,5} – размер частиц от 2,5 мкм и менее; РМ_{Resp.} (РМ₄) – размер частиц от 4 мкм (респираторная фракция пыли) и менее; РМ₁₀ – размер частиц от 10 мкм и менее (диапазон измерений массовой концентрации аэрозольных частиц от 0,01 до 150 мг/м³). Использовали анализатор аэрозолей DustTrak (Государственный реестр средств измерений номер 55060–13);

3) метод сканирования мобильности частиц (SMPS-спектрометрия), диапазон измеряемых размеров 10–420 нм, числовая концентрация частиц $1 \cdot 10^2$ – $1 \cdot 10^6$ частиц/см³;

4) метод сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и метод электронно-зондового микроанализа использовали для исследования элементного состава, размеров и формы наночастиц в пробах.

Для изучения воздействия наночастиц меди на здоровье работников на производствах были сформированы три группы лиц по следующим критериям: мужской пол, непрерывный стаж в профессии более 10 лет, отсутствие выявленных заболеваний ЦНС, гепатобилиарной, мочевыделительной систем, отсутствие признаков злоупотребления алкоголем. До начала исследования работники проходили анкетирование, включавшее в себя вопросы о трудовом стаже, состоянии здоровья.

Работники были разделены на следующие группы в зависимости от участия в технологических процессах:

- 1-я группа – разлищики и плавильщики при плавке черновой меди (аэрозоли конденсации сложного состава с наличием наночастиц меди);
- 2-я группа – плавильщики при производстве катанки из катодной меди (аэрозоли конденсации с преобладанием в составе наночастиц меди высокой чистоты);
- 3-я группа – операторы узла упаковки при производстве медных порошков (аэрозоли дезинтеграции с частицами меди высокой чистоты размером более 100 нм).

При интервьюировании работникам были заданы вопросы о выполняемых служебных обязанностях, состоянии здоровья, наличии вредных привычек. Обследование проводили в объёме стандарта, предусмотренного приказом Минздравсоцразвития России от 12.04.2011 г. № 302н (ред. от 05.12.2014 г.) «Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжёлых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда». Дополнительно

проводили исследование биохимических показателей, которые могли бы свидетельствовать о возможном токсическом воздействии меди на мишени – органы и системы (ЦНС, гепатобилиарная система, мочевыделительная система). Определяли содержание меди в крови и моче, церулоплазмин, щелочную фосфатазу, общий белок крови, показатели креатинина сыворотки, креатинфосфокиназы, белков S100, нейронспецифической эналазы, микроальбумина в моче. Исследования проводили с помощью гематологического анализатора MYTHIS-18 и биохимического анализатора «Кобас Интегра» с использованием соответствующих диагностических наборов (за исключением SH-группы в сыворотке крови и церулоплазмине).

В эксперименте по оценке эффектов наночастиц меди использовали белые крысы (аутбредные самки с массой тела ≈ 200 г) по 12 особей в исследуемых и контрольной группах. Животные содержались в виварии, согласно действующим нормативным требованиям. Непосредственно экспериментальное исследование проводилось путём субхронической внутрибрюшинной затравки. Исследуемые наночастицы и микрочастицы меди в виде водной суспензии с контролируемой концентрацией 0,5 мг/мл на крысу из расчёта 10 мг/кг массы тела трёхкратно в течение недели (всего 19 введений) вводили подопытным крысам внутрибрюшинно. Для введения в эксперименте использовали микрочастицы меди сферической формы со средним диаметром 320–340 нм (далее – МЧ) и частицы меди нанометрового диапазона с диаметром 18–20 нм (далее – НЧ), полученные либо методом лазерной фрагментации нанопорошка меди фирмы Alfa Aesar (30 нм) в виде водной суспензии, либо методом лазерной абляции медной мишени в водной среде. Для получения НЧ методом лазерной абляции в водной фазе использовали лазерную систему Fmark-20 RL со встроенной системой сканирования (производство ООО «Центр лазерных технологий», Россия). Источник излучения – иттербиевый волоконный лазер. В контрольной группе животных для введения использовали такой же объём деионизированной воды.

В эксперименте было использовано три группы животных по 12 особей в каждой, все они получили групповую и индивидуальную маркировку в виде метки и соответствующий номер для оценки результатов.

Животные были распределены по следующим группам:

- 1-й группе вводили суспензии наночастиц меди (НЧ);
- 2-й группе вводили суспензии микрочастиц меди (МЧ);
- 3-й группе вводили деионизированную воду.

Оценка эффектов воздействия вводимых препаратов предполагает комплексное изучение состояния организма в целом и отдельных органов и систем. Как стандартные критерии оценки учитывали динамику массы тела и поведенческие реакции подопытных животных («норковый рефлекс» и суммационно-пороговый показатель). Оценка параметров крови животных (капиллярная кровь из кончика хвоста) включала изучение содержания в крови эритроцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, ретикулоцитов, гемоглобина и активности сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов. Собираемая моча исследовалась по следующим параметрам: объём суточного диуреза, концентрация и суточное выведение эндогенного креатинина, копропорфирина и дельта-аминолевулиновой кислоты (ДАЛК). После забоя животных исследовали массу внутренних органов (селезёнка, печень, почки). Собранную кровь исследовали на содержание общего белка, альбуминов, глобулинов, церулоплазмине, малонаого диальдегида, щелочной фосфатазы, активность аланин- и аспартат-трансаминазы, гамма-глутаминтрансферазы, билирубина, креатинина.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась в пакетах прикладных программ Microsoft Excel 2016, Gnu Regression, Econometrics and Time-series Library (GRETLL). Оценка статистической значимости межгрупповых различий средних показателей оценивалась при парном сравнении отдельных показателей с помощью *t*-критерия Стьюдента.

Таблица 1 / Table 1

Характеристика рабочих мест по составу аэрозоля
Description of select workplaces by aerosol composition

Параметры аэрозоля Aerosol parameters	Рабочее место / Workplace		
	разливщика и плавильщика при плавке черновой меди caster and furnace operator in blister copper smelting	оператора узла упаковки при производстве медных порошков packaging unit operator in copper powder manufacturing	плавильщика при производстве катанки из чистой меди (катодной) меди copper operator in the production of wire rod from fine (cathode) copper
Концентрация меди в воздухе рабочей зоны, мг/м ³ (количественные методы исследования) / Copper concentration in the workplace air, mg/m ³ (quantitative methods of testing)	0.16 ± 0.031	0.77 ± 0.19	0.07 ± 0.017
Доля частиц размером более 100 нм, % (Proportion of particles sized > 100 nm, %)	84.32	99.89	46.36
Доля частиц размером до 100 нм, % (Proportion of particles sized < 100 nm, %)	15.68	0.11	53.64
Расчётная масса частиц размером более 100 нм, мг/м ³ Estimated mass of particles sized > 100 nm, mg/m ³	0.1349	0.7691	0.0325
Расчётная масса частиц размером до 100 нм, мг/м ³ Estimated mass of particles sized < 100 nm, mg/m ³	0.025	0.0008	0.0375

Результаты

Анализ содержания наночастиц в воздухе рабочих мест показал преобладание наночастиц меди при плавке чистой (катодной) меди (аэрозоли конденсации), доля частиц размером до 100 нм составила 53,6%. На рабочем месте плавильщика при плавке черновой меди доля частиц размером до 100 нм составила 15,7%. Было выявлено практически полное отсутствие наночастиц при производстве медных порошков (аэрозоли дезинтеграции), массовая доля наночастиц составила 0,1%. Данные по составу аэрозолей представлены в табл. 1.

На основании результатов изучения дисперсного состава аэрозоля были выбраны параметры наночастиц меди (18–20 нм) и микрочастиц меди (320–340 нм) для проведения эксперимента на животных. По результатам затравки в эксперименте установлено статистически значимое

повышение массовых коэффициентов печени, селезёнки и почек при воздействии наночастиц. В организме животных выявлены неблагоприятные сдвиги со стороны крови (снижение содержания гемоглобина и числа эритроцитов при повышении процента ретикулоцитов) и порфиринового обмена (повышение почечной экскреции копропорфирина при сниженной экскреции дельта-аминолевулиновой кислоты). Обнаружено снижение активности сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов крови, а также подавление перекисного окисления липидов (снижение почечной экскреции МДА), причём не было выявлено токсикодинамических показателей, по которым микрочастицы проявляли более высокую системную токсичность по сравнению с наночастицами. Функциональные показатели состояния организма крыс, подвергавшихся субхронической затравке медьсодержащими частицами, представлены в табл. 2.

Таблица 2 / Table 2

Функциональные статистически значимые показатели состояния организма крыс, подвергавшихся субхронической затравке медьсодержащими частицами (X ± S_x)

Statistically significant functional indicators of the body in rats with subchronic toxicity of copper-containing particles (X ± S_x)

Показатель Indicators	Группа животных / Groups of animals		
	1-я, получала наночастицы 1 st , nanoparticles	2-я, получала микрочастицы 2 nd , microparticles	3-я, получала воду (контроль) 3 rd , water (controls)
СПП, с (АТ1, sec)	12.2 ± 1.13**	15.9 ± 0.96	13.4 ± 0.84
Норковый рефлекс, количество заглядываний за 3 мин (Number of head dips into holes in 3 min)	6.1 ± 1.12	6.0 ± 0.66	9.1 ± 1.70
Гемоглобин в крови, г/л (Hemoglobin in blood, g/L)	13.4 ± 0.35*	15.4 ± 0.38*	16.6 ± 0.40
Эритроциты, 10 ¹² /л (Erythrocytes, 10 ¹² /L)	1.61 ± 0.05*	1.69 ± 0.05*	1.84 ± 0.03
Ретикулоциты, ‰ (Reticulocytes, ‰)	28.9 ± 2.14**	11.0 ± 1.34	10.45 ± 0.78
Активность СДГ, число гранул в 50 лимфоцитах (SDH activity, number of granules per 50 lymphocytes)	656.75 ± 11.99*	744.6 ± 13.18	737.1 ± 10.74
Восстановленный глутатион, ммоль/л (Reduced glutathione, mmol/L)	0.64 ± 0.061	0.68 ± 0.042*	0.53 ± 0.044
МДА в сыворотке крови, нмоль/л (MDA in blood serum, nmol/L)	3.7 ± 0.17*	4.22 ± 0.16	4.0 ± 0.123
Церулоплазмин в сыворотке крови, мг% (Serum ceruloplasmin, mg%)	80.0 ± 5.46	88.5 ± 7.47	90.9 ± 4.95
Копропорфирин в моче, нмоль/л (Coprotoporphyrin in urine, nmol/L)	89.15 ± 9.48**	53.3 ± 9.10	69.0 ± 12.10
δ-АЛК в моче, мкмоль/л (δ-ALA in urine, μmol/L)	5.9 ± 1.07*	8.0 ± 1.34	10.4 ± 1.80
Масса печени, на 100 г (Liver weight, per 100 g)	4.03 ± 0.14*	3.72 ± 0.075	3.60 ± 0.12
Масса почек, на 100 г (Kidney weight, per 100 g)	0.63 ± 0.02*	0.65 ± 0.02*	0.40 ± 0.039
Масса селезёнки, на 100 г (Spleen weight, per 100 g)	0.49 ± 0.04*	0.44 ± 0.026	0.38 ± 0.02

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4: * – статистически значимые отличия от контрольной группы; ** – статистически значимые отличия от группы МЧ (по *t*-критерию Стьюдента при *p* < 0,05).

Note: Here and in Table 3, 4: Statistically significant differences from the * – control group and ** – microparticle exposure group (*p* < 0.05, based on *t*-test).

Таблица 3 / Table 3

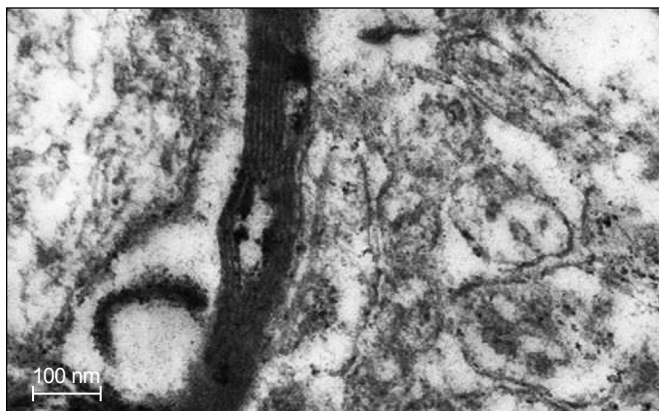
Морфометрические характеристики печени крыс, подвергавшихся субхронической заправке медьсодержащими частицами ($X \pm S_x$)
Morphometric characteristics of the liver of the rats subchronically exposed to copper-containing particles ($X \pm S_x$)

Группы крыс, получавшие Groups received	Число гепатоцитов на 100 клеток / Number of hepatocytes per 100 cells		Число клеток Купфера на 100 клеток Number of Kupffer cells, per 100 cells
	безъядерных / nuclear-free	двухъядерных / binucleated	
1-я, наночастицы / 1 st , nanoparticles	6.88 ± 0.5**	13.2 ± 0.78*	54.06 ± 1.80**
2-я, микрочастицы / 2 nd , microparticles	8.75 ± 0.80	15.19 ± 1.10	49.19 ± 1.30*
3-я, воду (контроль) / 3 rd , water (Controls)	8.08 ± 0.55	16.50 ± 1.20	42.79 ± 1.60

Таблица 4 / Table 4

Морфометрические характеристики почек крыс, подвергавшихся субхронической заправке медьсодержащими частицами ($X \pm S_x$)
Morphometric characteristics of kidneys of the rats subchronically exposed to copper-containing particles ($X \pm S_x$)

Группы, получавшие Groups exposed to	Площадь по внутренней поверхности капсулы, мкм ² Area by the inner surface of the capsule, μm ²	Площадь клубочка, мкм ² Area of the glomerulus, μm ²	Площадь мочевого пространства, мкм ² Area of the urinary space, μm ²	Длина участка десквамации щёточной каёмки, % Length of the brush border desquamation site, %	Длина участка десквамации эпителия, % Length of the site of epithelial cell desquamation, %
1-я, наночастицы 1 st , nanoparticles	4547.6 ± 78.37	3331.5 ± 59.80	1216.1 ± 31.48*	8.36 ± 0.76*	1.16 ± 0.38*
2-я, микрочастицы 2 nd , microparticles	4672.9 ± 101.24*	3484.1 ± 78.86	1188.9 ± 37.56*	7.97 ± 0.85*	1.18 ± 0.41*
3-я, воду (контроль) 3 rd , water (Controls)	4368.6 ± 88.72	3395.9 ± 81.71	972.6 ± 60.23	5.39 ± 0.42	0.33 ± 0.13



Повреждение миелиновой оболочки нейронов (НЧ в форме мелких гранул).

Damage to the myelin sheath of neurons (nanoparticles (NPs) are visible in the form of small granules).

Обнаружено также, что при воздействии наночастиц в печени крыс определяется более существенное, чем при воздействии микрочастиц, угнетение репарационного деления гепатоцитов (отражаемое числом двухъядерных клеток) и повышение числа клеток Купфера (табл. 3).

В почках экспериментальных животных под воздействием наночастиц отмечается более выраженная потеря щёточной каёмки эпителия извитых канальцев (табл. 4).

В головном мозге крыс под влиянием как наночастиц, так и микрочастиц обнаружены патологические изменения нейронов ганглиозного слоя коры и базальных ядер (см. рисунок).

Исследование состояния здоровья работников не выявило значимых функциональных отклонений. Обнаружено статистически значимое изменение биохимических показателей: зависимость уровня церулоплазмينا в крови от повышения содержания наночастиц в воздухе рабочей зоны. Результаты биохимических исследований крови и мочи работников представлены в табл. 5.

Таблица 5 / Table 5

Результаты биохимических исследований крови и мочи работников

Results of biochemical test of the blood and urine in workers

Показатель Indicator	Референтное значение [18, 19] Reference value [18, 19]	Группы исследования, среднее ($M \pm m$) / Study groups, Mean ($M \pm m$)			p^{1-3}	p^{1-2}	p^{2-3}
		1-я, медеплавильный цех 1 st , copper smelting shop	2-я, цех медных порошков 2 nd , copper powder shop	3-я, производство медной катанки 3 rd , copper rod production			
Медь в крови, мкмоль/л Blood copper blood, mol/L	10.99–21.98	15.2875 ± 0.462	14.08 ± 0.638	15.37 ± 0.691	0.760	0.410	0.345
Медь в моче, мкг/л Urine copper urine level, μg/L	2 – 80	16.58125 ± 1.329	14.088 ± 1.1	14.86 ± 1.452	0.600	0.509	0.879
Церулоплазмин, мг/л Ceruloplasmin, mg/L	200–600	209.85 ± 11.714	168.82 ± 18.77	301.37 ± 28.7	0.024	0.049	0.018
Щелочная фосфатаза, ед/л Alkaline phosphatase, U/L	40–130	78.725 ± 3.95	77.6 ± 4.827	59.03 ± 8.617	0.110	0.442	0.429
Белок S100, нг/л S100 protein, ng/L	< 105	77.01525 ± 15.45	84.022 ± 6.461	48.04 ± 14.096	0.088	0.508	0.105

Примечание. p^{1-3} , p^{1-2} , p^{2-3} – достоверность различий между группами, цифры соответствуют номерам групп.

Note: p^{1-3} – statistical significance of differences between cohorts 1 and 3; p^{1-2} – between 1 and 2; p^{2-3} – between 2 and 3.

Обсуждение

Полученные результаты подтверждают более высокую токсичность наночастиц по сравнению с микрочастицами [1, 2, 4, 15, 17]. Кроме того, в эксперименте на животных под воздействием наночастиц меди наблюдается первоначальный этап снижения оперативных запасов и зависимых от работы печени ферментов, прежде всего – специфического для меди транспортного белка церулоплазмينا, выступающего в виде мобильного депо в организме. Наблюдаемая картина совпадает с результатами, описанными другими исследователями в отношении печёночных ферментов. Авторы указывают на то, что релизу печёночного фермента, например, АЛТ, предшествует фаза снижения его уровня в крови, которое может быть объяснено только подавлением его синтеза гепатоцитами или ингибирующим влиянием токсичного металла на его активность. Например, после однократного внутрибрюшинного введения крысам наносеребра Lee с соавт. (2013) [20] наблюдали снижение уровня АЛТ сыворотки в сравнении с контролем.

Различия в ответных реакциях организма между НЧ и МЧ меди обусловлены более высокой растворимостью и реактогенностью НЧ, верхний слой которых представлен оксидами. Этот же факт объясняет нарастание уровней церулоплазмينا у работающих, находящихся под постоянными экспозициями к наночастицам меди в составе аэрозолей: в этом случае мы наблюдаем выраженную компенсаторную реакцию со стороны организма, направленную на связывание растворённых ионов меди в крови [4, 7, 9, 14, 16].

Наблюдаемый эффект даёт возможность предварительно обосновать изменение уровня церулоплазмينا в крови как маркёр воздействия наночастиц меди на организм [15, 16].

Выявленные признаки поражения печени и почек с учётом имеющихся данных о биокинетике наночастиц свиде-

тельствуют о существенном токсическом потенциале наночастиц в отношении органов-мишеней, гепатобилиарной и мочевыделительной систем как ключевых звеньев общетоксической защиты организма. Принципиально важным является то, что имеющиеся в научной литературе последних лет данные о генотоксичности как медных солей, так и наночастиц могут быть отнесены и к медным, меднооксидным нано- и микрочастицам [14–16].

Выявленные патологические изменения нейронов ганглиозного слоя коры и базальных ядер у животных требуют дальнейшего изучения токсического потенциала наночастиц меди в отношении центральной нервной системы и возможных отдалённых последствий.

Полученные данные о дисперсном составе аэрозолей в совокупности с данными о более высокой токсичности наночастиц требуют уточнения подходов к нормированию аэрозолей с учётом их дисперсного состава. Необходимы имплементация существующего международного опыта, а также обобщение практики нормирования частиц в атмосферном воздухе, которая опирается на разделение частиц по линейным размерам [2, 3].

Заключение

Наночастицы меди, содержащиеся в аэрозолях медеплавильных производств, являются дополнительным фактором риска для здоровья работающих. Более высокая токсичность и выявленные специфические эффекты определяют необходимость разработки дополнительных профилактических мер и дальнейшего изучения возможных отдалённых эффектов. Изменение концентрации специфических транспортных белков, в частности церулоплазмينا, может выступать в роли маркёров экспозиции для наночастиц меди в условиях реального производства.

Литература

(п.п. 1, 9–16, 20 см. References)

2. Фатхутдинова Л.М., Халиуллин Т.О., Зялялов Р.Р. Токсичность искусственных наночастиц. *Казанский медицинский журнал*. 2009; 90(4): 578–84. <https://www.elibrary.ru/kzljcr>
3. Сопова Е.А., Ганковская О.А., Баранов В.И., Лавров В.Ф., Зверев В.В. Наноразмерные соединения и перспективы ускоренного определения их цитотоксических свойств с целью гигиенического нормирования. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО*. 2010; (2): 41–4.
4. Ковалева Н.Ю., Раевская Е.Г., Рощин А.В. Проблемы безопасности наноматериалов: нанобезопасность, нанотоксикология, наноинформатика. *Химическая безопасность*. 2017. 1(2): 44–87. <https://doi.org/10.25514/CHS.2017.2.10982> <https://www.elibrary.ru/ymwmkn>
5. Тутельян В.А., Хотимченко С.А., Гмошинский И.В., Шумакова А.А., Распопов Р.В. Комплексная медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов: информационно-аналитическая и экспериментальная составляющие. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО*. 2011; (5): 15–8. <https://www.elibrary.ru/ntjvgl>
6. Глушкова А.В., Радиллов А.С., Дулов С.А., Хлебникова Н.С. Сравнительные подходы к оценке риска и гигиенического регламентирования наноматериалов в России и Евросоюзе (на примере Норвегии). *Токсикологический вестник*. 2016; (6): 31–5. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2016-6-31-35> <https://www.elibrary.ru/xcsjqv>
7. Хамидулина Х.Х., Давыдова Ю.О. Международные подходы к оценке токсичности и опасности наночастиц и наноматериалов. *Токсикологический вестник*. 2011; (6): 53–7.
8. Леоненко Н.С. Сравнительный анализ токсичности и опасности химических соединений различной размерности (обзор литературы). *Украинский журнал современных проблем токсикологии*. 2016; (2): 48–61.
17. Минигалиева И.А., Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Шур В.Я. и др. Сравнительная и комбинированная токсичность наночастиц оксидов алюминия, титана и кремния и её ослабление комплексом биопротекторов. *Токсикологический вестник*. 2018; (2): 18–27. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2018-2-18-27> <https://www.elibrary.ru/yxrbefu>
18. Вяткина П., ред. *Анализ. Полный медицинский справочник*. М.: Эксмо; 2013.
19. Хиггинс К. *Расшифровка клинических лабораторных анализов*. Пер. с англ. М.: БИНОМ; 2011.
21. Рослый О.Ф., Рослая Н.А., Слышкина Т.В., Федорук А.А. *Медицина труда при производстве и обработке сплавов цветных металлов*. Екатеринбург; 2012. <https://www.elibrary.ru/tjggbx>

References

1. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Soloboyeva J.I. Biological prophylaxis of adverse health effects caused by environmental and occupational impacts – theoretical premises, experimental and field testing, practical realization. *Central. Eur. J. Occup. Med.* 2009; 15(1–2): 35–51. https://www.nnk.gov.hu/cejoem/Volume15/Vol15No1-2/CE09_1-2-03.html
2. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Zalyalov R.R. Toxicity of synthetic nanoparticles. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; 90(4): 578–84. <https://www.elibrary.ru/kzljcr> (in Russian)
3. Sopova E.A., Gankovskaya O.A., Baranov V.I., Lavrov V.F., Zverev V.V. Nano-dimensional compounds and the prospects of rapid determination of their cytotoxic characteristics with the purpose of hygienic standardization. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNiSO*. 2010; (2): 41–4. (in Russian)
4. Kovaleva N.Yu., Raevskaya E.G., Roshchin A.V. Aspects of nanomaterial safety: nanosafety, nanotoxicology, nanoinformatics. *Khimicheskaya bezopasnost'*. 2017. 1(2): 44–87. <https://doi.org/10.25514/CHS.2017.2.10982> <https://www.elibrary.ru/ymwmkn> (in Russian)
5. Tutel'yan V.A., Khotimchenko S.A., Gmoshinskiy I.V., Shumakova A.A., Raspopov R.V. Comprehensive medical-biological evaluation of nanomaterials safety: communicatory-analytical and experimental constituents. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNiSO*. 2011; (5): 15–8. <https://www.elibrary.ru/ntjvgl> (in Russian)
6. Glushkova A.V., Radilov A.S., Dulov S.A., Khlebnikova N.S. Comparative approaches to risk assessment and hygienic regulation of nanomaterials in Russia and in the European Union (on example of Norway). *Toksikologicheskii vestnik*. 2016; (6): 31–5. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2016-6-31-35> <https://www.elibrary.ru/xcsjqv> (in Russian)
7. Khamidulina Kh.Kh., Davydova Yu.O. International approaches to assessing the toxicity and danger of nanoparticles and nanomaterials. *Toksikologicheskii vestnik*. 2011; (6): 53–7. (in Russian)

8. Leonenko N.S. Comparative analysis of toxicity and danger of chemical compounds of various dimensions (literature review). *Ukrainskiy zhurnal sovremennykh problem toksikologii*. 2016; (2): 48–61. (in Russian)
9. Pokharkar V., Dhar S., Bhumkar D., Mali V., Bodhankar S., Prasad B.L.V. Acute and subacute toxicity studies of chitosan reduced gold nanoparticles: a novel carrier for therapeutic agents. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2009; 5(3): 233–9. <https://doi.org/10.1166/jbn.2009.1027>
10. Wen H., Dan M., Yang Y., Lyu J., Shao A., Cheng X., et al. Acute toxicity and genotoxicity of silver nanoparticle in rats. *PLoS One*. 2017; 12(9): e0185554. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185554>
11. Zhu M.T., Feng W.Y., Wang B., Wang T.C., Gu Y.Q., Wang M., et al. Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron ferric oxide in rats. *Toxicology*. 2008; 247(2–3): 102–11. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.02.011>
12. Chen Z., Meng H., Xing G., Chen C., Zhao Y., Jia G., et al. Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*. *Toxicol. Lett.* 2006; 163(2): 109–20. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.10.003>
13. Klarsson H.L., Cronholm P., Gustafsson J., Möller L. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chem. Res. Toxicol.* 2008; 21(9): 1726–32. <https://doi.org/10.1021/tx800064j>
14. Sokol R.J., Devereaux M.W., Traber M.G., Shikes R.H. Copper toxicity and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes: effect of vitamin E. *Pediatr. Res.* 1989; 25(1): 55–62. <https://doi.org/10.1203/00006450-198901000-00014>
15. Alarifi S., Ali D., Verma A., Alakhtani S., Ali B.A. Cytotoxicity and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in human skin keratinocytes cells. *Int. J. Toxicol.* 2013; 32(4): 296–307. <https://doi.org/10.1177/1091581813487563>
16. Cuillel M., Chevallet M., Charbonnier P., Fauquant C., Pignot-Paintrand I., Arnaud J., et al. Interference of CuO nanoparticles with metal homeostasis in hepatocytes under sub-toxic conditions. *Nanoscale*. 2014; 16(3): 1707–15. <https://doi.org/10.1039/c3nr05041f>
17. Minigalieva I.A., Katsnel'son B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya., et al. Comparative and combined toxicity of aluminum, titanium and silicon oxides nanoparticles and its alleviation with the complex of bioprotectors. *Toksikologicheskiiy vestnik*. 2018; (2): 18–27. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2018-2-18-27> <https://www.elibrary.ru/yxbefu> (in Russian)
18. Vyatkina P., ed. *Analyses: A Complete Medical Handbook [Analizy. Polnyy meditsinskiy spravochnik]*. Moscow: Eksmo; 2013 (in Russian)
19. Higgins C. *Understanding Laboratory Investigations: A Guide for Nurses, Midwives and Healthcare Professionals*. Wiley-Blackwell; 2007. (in Russian)
20. Lee T.Y., Liu M.S., Huang L.J., Lue S.I., Lin L.C., Kwan A.L., et al. Bioenergetic failure correlates with autophagy and apoptosis in rat liver following silver nanoparticle intraperitoneally administration. *Part. Fibre Toxicol.* 2013; 10: 40. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-10-40>
21. Roslyy O.F., Roslaya N.A., Slyshkina T.V., Fedoruk A.A. *Occupational Medicine in the Production and Processing of Non-Ferrous Metal Alloys [Meditsina truda pri proizvodstve i obrabotke splavov tsvetnykh metallov]*. Ekaterinburg; 2012. <https://www.elibrary.ru/tjggbx>