

Клинова С.В., Сутункова М.П., Минигалиева И.А., Рябова Ю.В., Тажигулова А.В., Привалова Л.И.

Сравнительный анализ цитологических показателей жидкости бронхоальвеолярного лаважа крыс после однократного воздействия металлоксидных наночастиц

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Производственная деятельность человека (металлургическая и горнодобывающая промышленность, производство и переработка электроники, аккумуляторов) связана с загрязнением воздуха рабочей зоны и среды обитания аэрозолями сложного состава. Наиболее опасными среди компонентов таких аэрозолей считаются ультрамальные частицы нанометрового диапазона, в том числе наноксиды металлов. В связи с их распространенностью исследования по оценке цитотоксичности металлоксидных наночастиц являются актуальными.

Материал и методы. Суспензии наночастиц (НЧ) CuO, PbO, CdO, Fe₂O₃, NiO были получены методом лазерной абляции. Исследования проводились на белых аутбредных крысах-самках. Проведена однократная интратрахеальная инстиляция НЧ различной химической природы в дозе 0,5 мг/животное; контрольные животные получали аналогичный объем деионизированной воды. Через 1 сут после введения НЧ у животных проводился бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) с последующей оценкой его цитологических показателей.

Результаты. Цитотоксическое действие исследованных НЧ, исходя из цитологических параметров жидкости БАЛ, изменяется следующим образом (от большего к меньшему): НЧ CuO > НЧ CdO > НЧ PbO > НЧ NiO > НЧ Fe₂O₃.

Ограничения исследования. Такие физические характеристики наночастиц, как растворимость в воде и биологических жидкостях, заряд, адсорбционная способность, устойчивость к агрегации, гидрофобность, адгезия к поверхности, способность генерировать свободные радикалы, не были изучены. Экстраполяцию данных от грызунов на человека следует проводить с осторожностью, поскольку цитотоксичность охарактеризована только на основе цитологических показателей.

Заключение. Таким образом, сравнительный анализ изменений цитологических показателей бронхоальвеолярного лаважа может быть использован как эффективный скрининговый метод цитотоксического действия НЧ.

Ключевые слова: металлоксидные наночастицы; цитотоксичность; интратрахеальное ведение; крысы

Соблюдение этических стандартов. Работа одобрена Локальным независимым этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол № 2 от 20.04.2020).

Для цитирования: Клинова С.В., Сутункова М.П., Минигалиева И.А., Рябова Ю.В., Тажигулова А.В., Привалова Л.В. Сравнительный анализ цитологических показателей жидкости бронхоальвеолярного лаважа крыс после однократного воздействия металлоксидных наночастиц. *Токсикологический вестник*. 2023; 31(6): 363–375. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2023-31-6-363-375>

Для корреспонденции: Клинова Светлана Владиславовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация. E-mail: klinova.svetlana@gmail.com

Участие авторов: Сутункова М.П., Минигалиева И.А., Привалова Л.И. – концепция и дизайн исследования, редактирование; Клинова С.В., Рябова Ю.В. – проведение эксперимента, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Тажигулова А.В. – проведение эксперимента, сбор и обработка материала, редактирование. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Благодарность. Авторы выражают благодарность коллективу Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина и лично директору УЦКП СЧ, профессору, д.ф.м.н. Шуру Владимиру Яковлевичу за синтез суспензий, исследованных наночастиц заданной характеристики на базе УЦКП СЧ УрФУ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Дата поступления: 18 мая 2023 / Дата принятия в печать: 03 декабря 2023 / Дата публикации: 29 декабря 2023

Введение

Производственная деятельность человека (металлургическая и горнодобывающая промышленность, производство и переработка электроники, аккумуляторов) связана с загрязнением воздуха рабочей зоны и среды обитания аэрозолями сложного состава. Одним из компонентов таких аэрозолей являются частицы нанометрового диапазона, в том числе наноксиды металлов [1]. Частицы нанометрового диапазона считаются опасным компонентом вдыхаемого воздуха. В первую очередь из-за своего размера, определяющего взаимодействие со структурами организма [2]. Крупные частицы осаждаются в верхних дыхательных путях, более мелкие частицы оседают в трахее и бронхах, а частицы менее 2 мкм могут достигать альвеол и наиболее склонны к системному действию [3]. Так, наночастицы (НЧ) металлов проявляют наибольшую системную токсичность и в большей степени вызывают местные реакции организма при ингаляционном поступлении [4], часть из которых определяется специфическими характеристиками НЧ-образующего химического элемента и активирует определенные механизмы токсичности. Наряду с этим также считается, что цитотоксичность наночастиц возрастает с увеличением атомного номера НЧ-образующего химического элемента [5].

Многочисленными исследованиями как *in vitro*, так и *in vivo* были продемонстрированы бронхоальвеолярные цитотоксические эффекты наночастиц.

В исследованиях на культуре раковых клеток A549, полученных из бронхоальвеолярной карциномы человека, была показана стимуляция образования активных форм кислорода (АФК) и снижение уровня аденозинтрифосфата после воздействия на них НЧ Al_2O_3 , НЧ TiO_2 , НЧ SiO_2 размером от 10 до 60 нм [6]. При воздействии НЧ SiO_2 размером 15 и 46 нм выявлено дозозависимое снижение жизнеспособности клеток и одномоментное повышение концентрации АФК в среде [7]. В отношении легочных альвеолярных эпителиальных клеток человека (HRAEpiC) НЧ ZnO проявляли токсическое действие, вызывая образование и накопление АФК в митохондриях путем ингибирования активности фермента супероксиддисмутазы и снижения содержания глутатиона. АФК, в свою очередь, открывают митохондриальный Ca^{2+} -путь и снижают митохондриальные мембранные потенциалы, что приводит к апоптозу [8]. При сравнительной оценке НЧ Fe_2O_3 и НЧ ZnO на клеточных линиях BEAS-2B и A549 показано, что НЧ ZnO , но не НЧ Fe_2O_3 ,

вызывают остановку клеточного цикла, апоптоз клеток, выработку АФК, митохондриальную дисфункцию и нарушение метаболизма глюкозы, которые ответственны за цитотоксичность [9]. Однако НЧ Fe_3O_4 , также могут приводить к нарушениям митохондриальной активности, увеличивать выработку АФК в клетках и приводить к значительному снижению уровня АТФ [10].

При воздействии *in vivo* в исследовании на крысах выявили токсическое действие наночастиц оксидов индия-олова, сопряженное с развитием острой воспалительной реакции после интратрахеального воздействия [11]. Интратрахеальная инстилляционная НЧ CuO у мышей линии C57BL/6 может вызывать легочный фиброз, во-первых, индуцируя апоптоз эпителиальных клеток, что частично было вызвано увеличением количества АФК, и усугубляя воспаление в легочной ткани дозозависимым образом [12]. В эксперименте на крысах показано, что при хроническом ингаляционном воздействии в течение 10 мес НЧ NiO вызывают на фоне невыраженной легочной патологии, связанной с достаточно низкой хронической задержкой наночастиц в легких, проявления системной токсичности [13]. Аналогичную системную токсичность при ингаляционном воздействии для наночастиц оксида свинца показали J. Dumková и соавт. [14].

Интратрахеальные инстилляционные также полезны для ранжирования токсичности НЧ, как и ингаляционные исследования [15]. В связи с чем представляет интерес изучение сравнительной цитотоксичности наночастиц различной химической природы при интратрахеальном пути введения.

Материал и методы

Синтез наночастиц. Суспензии наночастиц (НЧ) получали в Центре коллективного пользования «Современные нанотехнологии» УрФУ методом лазерной абляции металлических пластин (99,99 % чистоты, толщиной 1 мм) под слоем деионизированной воды (до 30 мл), что позволило получить суспензии с достаточно узким распределением НЧ по размерам. И, хотя единичные НЧ имеют тенденцию слипаться, образующиеся агрегаты не повлияли на общую картину распределения частиц по диаметру в суспензии. Стабильность суспензий характеризовалась величиной дзета-потенциала, измеренного с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания), и была высокой (дзета-потенциал вплоть до 42 mV), что позволило повысить концентрацию суспензии путём частичного испарения воды при 50 °С. Этим способом удалось

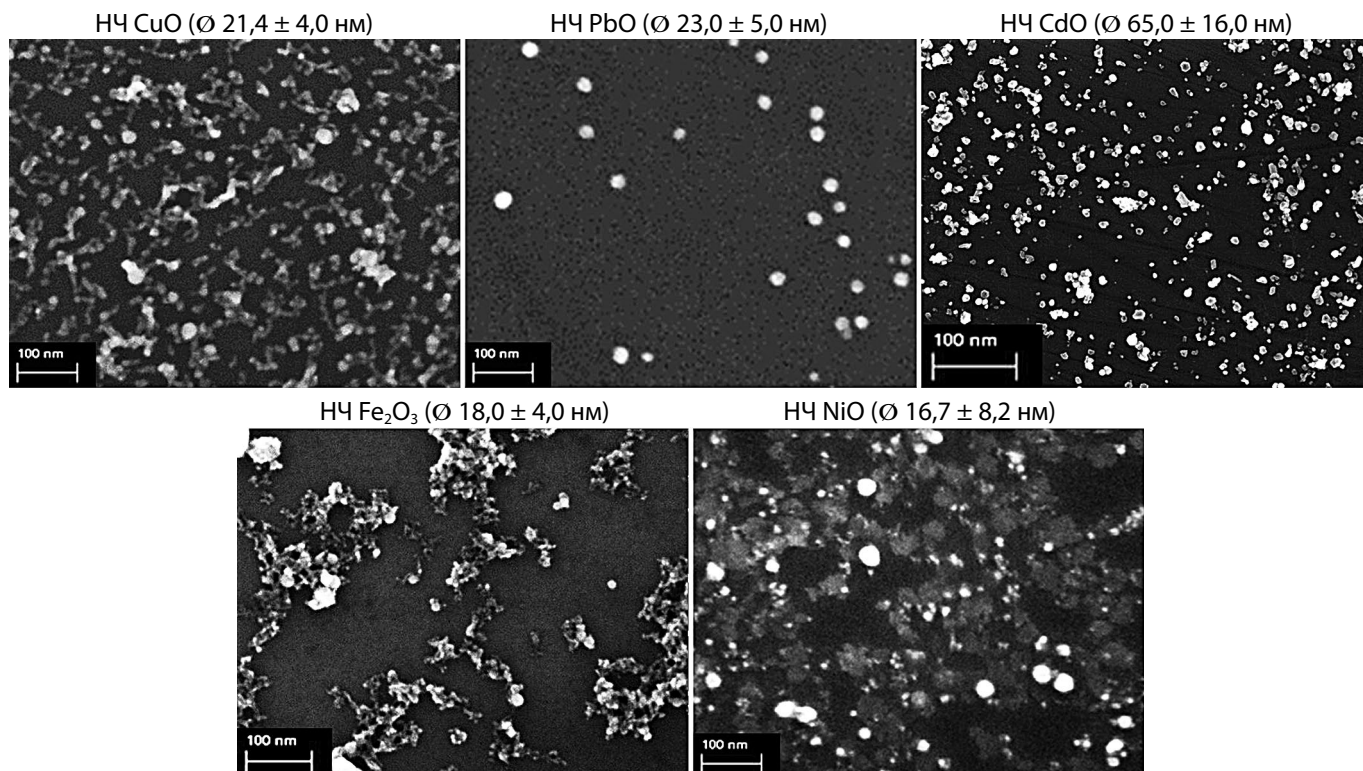


Рис. 1. Визуализация металлооксидных наночастиц (НЧ) различной химической природы (НЧ CuO, НЧ PbO, НЧ CdO, НЧ Fe₂O₃, НЧ NiO), синтезированных методом лазерной абляции.

Ø – средний диаметр ± ошибка среднего; сканирующая электронная микроскопия, увеличение 80 000.

достичь концентрации 0,5 мг/мл без изменения размера и химической идентичности НЧ.

Все изученные металлооксидные наночастицы имели форму, близкую к сферической. Их внешний вид и размеры представлены на рис. 1.

Экспериментальные животные. В эксперименте использовались белые беспородные крысы-самки исходной массой тела около 200 г (разброс не превышал 20%) в возрасте около 3 мес. Животных содержали в обособленном помещении вивария Центра, они дышали нефилтрованным воздухом, снабжались бутилированной артезианской водой и стандартным сбалансированным кормом в соответствии с требованиями "International guiding principles for biomedical research involving animals" разработанного "Council for International Organizations of Medical Sciences" и "International Council For Laboratory Animal Science" (2012).

Работа одобрена независимым Локальным этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол № 2 от 20.04.2020).

Оценка цитотоксичности. Животным под эфирным рауш-наркозом вводили интратрахеально 1 мл суспензии НЧ в дозе 0,5 мг/животное; контрольные животные получали тот же объем деионизированной воды. Цитотоксическое действие оценивали в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ) через 24 ч после

однократного интратрахеального введения по выраженности реакции альвеолярного фагоцитоза. После отбора пробы объем БАЛЖ фиксировали, БАЛЖ помещалась в охлажденные пробирки. Аликвотная проба БАЛЖ набиралась в меланжер для белых кровяных телец вместе с метиленовым синим, растворенным в 3% уксусной кислоте. Подсчет клеток велся с помощью камеры Горяева методом оптической микроскопии. Остальной объем БАЛЖ центрифугировали в течение 4 мин при 200 g, затем жидкость декантировалась, а из осадка готовились мазки на два предметных стекла. После просушивания на воздухе мазки фиксировались метиловым спиртом и окрашивались азур-эозином. Мазки микроскопировались с иммерсией при увеличении ×1000. Дифференциальный подсчет для определения процента альвеолярных макрофагов (АМ), нейтрофильных лейкоцитов (НЛ), лимфоцитов и эозинофилов производился не менее, чем в 100 клетках. Пересчет на абсолютное число клеток проводился с учетом общего числа клеток в камере Горяева.

Статистическая обработка. Для выявления статистически значимых межгрупповых различий был использован *t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Данные в статье представлены в виде: среднее ± стандартная ошибка.

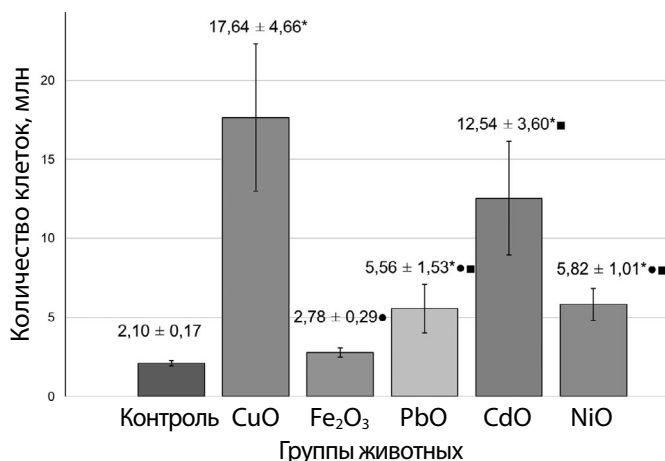


Рис. 2. Общее число клеток в БАЛЖ крыс после воздействия металлооксидных наночастиц. Статистически значимое отличие: * – от контроля; • – от группы CuO; ■ – от группы Fe₂O₃ ($p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента).

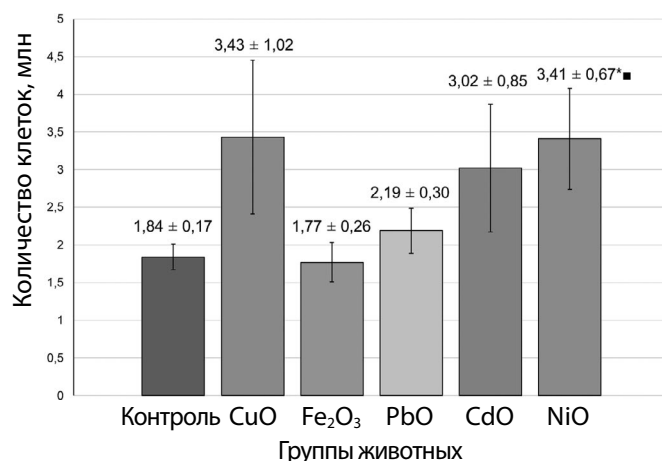


Рис. 4. Число альвеолярных макрофагов в БАЛЖ крыс после воздействия металлооксидных наночастиц. Статистически значимое отличие * – от контроля; ■ – от группы Fe₂O₃ ($p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента).

Результаты

В ряду металлооксидных наночастиц (НЧ CuO, НЧ PbO, НЧ CdO, НЧ Fe₂O₃, НЧ NiO), исследованных в дозе 0,5 мг/животное, обнаружено, что наибольшее увеличение общего числа клеток вызвали НЧ CuO и НЧ CdO (рис. 2). Наименьший приток клеток в легкие наблюдался после воздействия НЧ Fe₂O₃.

Наибольшее увеличение числа НЛ обнаружено после воздействия НЧ CuO, и, в несколько меньшей степени, после НЧ CdO (рис. 3). Не наблюдали изменений этого показателя в группах животных после инстилляций НЧ Fe₂O₃. Не обнаружено статистически значимых изменений, однако прослеживается тенденция

к увеличению НЛ, после воздействия НЧ PbO, НЧ NiO.

Число альвеолярных макрофагов возросло примерно в равной степени после воздействия НЧ CuO, НЧ NiO и НЧ CdO, при этом статистически значимо это увеличение было отмечено после воздействия лишь НЧ NiO (рис. 4.).

Основной критерий сравнительной оценки цитотоксического действия – соотношение числа нейтрофильных лейкоцитов к числу альвеолярных макрофагов (НЛ/АМ). Его значение было наибольшим после воздействия НЧ CuO (рис. 5). В несколько меньшей степени возросло соотношение НЛ/АМ после воздействия НЧ CdO. Минимальные изменения данного показателя наблюдалось после воздействия НЧ Fe₂O₃.

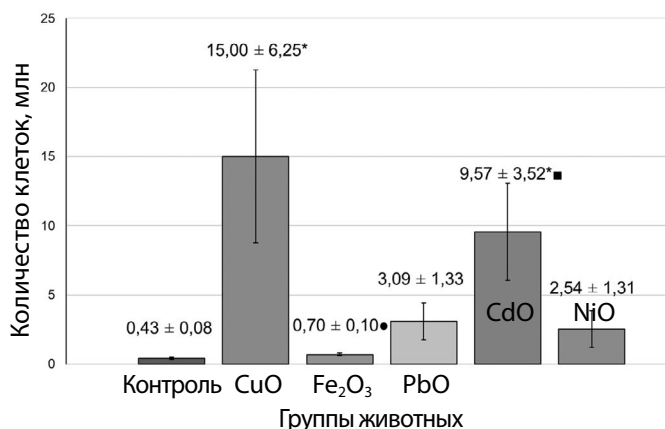


Рис. 3. Число нейтрофильных лейкоцитов в БАЛЖ крыс после воздействия металлооксидных наночастиц. Статистически значимое отличие: * – от контроля; • – от группы CuO; ■ – от группы Fe₂O₃ ($p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента).

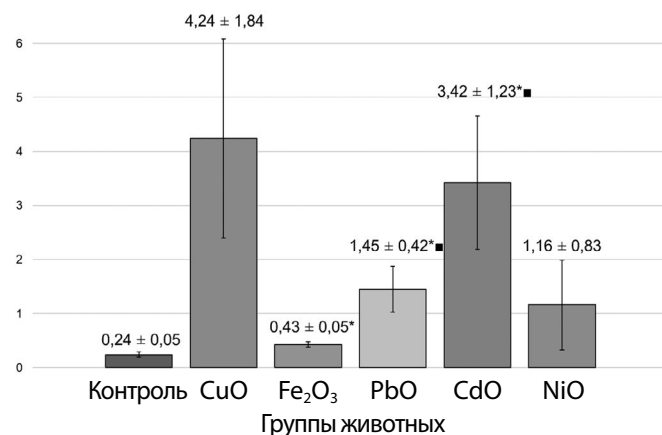


Рис. 5. Соотношение числа нейтрофильных лейкоцитов к числу альвеолярных макрофагов в БАЛЖ крыс после воздействия металлооксидных наночастиц. Статистически значимое отличие: * – от контроля; ■ – от группы Fe₂O₃ ($p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента).

Обсуждение

При попадании в глубокие дыхательные пути чужеродных частиц, включая наночастицы, происходит мобилизация фагоцитарной активности. В первую очередь фагоцитировать чужеродные частицы начинают АМ. Продукты их разрушения стимулируют приток НЛ. И чем более цитотоксичными оказываются чужеродные частицы, то есть, чем больше повреждений происходит под их влиянием в легочной ткани либо популяции фагоцитирующих клеток, тем происходит больший приток НЛ [16]. Поэтому клеточный сдвиг в сторону НЛ, который оценивается по отношению НЛ/АМ, является ключевым показателем сравнительной оценки цитотоксического действия [17].

При оценке влияния химической природы металлооксидных НЧ наибольший приток НЛ наблюдали после воздействия НЧ CuO (см. рис. 2). Важно отметить, что в ряду элементов, исследованных в виде наночастиц оксидов, медь является эссенциальным элементом, при этом НЧ CuO обладали даже большим цитотоксическим эффектом (отношение НЛ/АМ), чем частицы неэссенциальных элементов (НЧ CdO и НЧ PbO). Вероятно, это может быть связано с тем, что НЧ CuO являются НЧ с высокой окислительно-восстановительной активностью. Они приводят к высокой продукции активных форм кислорода (АФК) из-за быстрого растворения этих НЧ и легкой смены степени окисления растворенной медью, а также, как и у всех наночастиц, они имеют большую площадь активной поверхности [18]. В другом исследовании была показана также более высокая цитотоксичность и повреждение ДНК после воздействия НЧ CuO в сравнении с НЧ TiO₂, НЧ ZnO, НЧ CuZnFe₂O₄, НЧ Fe₃O₄, НЧ Fe₂O₃, карбоном и нанотрубками [19]. В недавнем обзоре [20] приводятся данные о влиянии наночастиц меди на легкие мышей и крыс при интраназальном поступлении: развивается воспаление, генерируются АФК, развиваются альвеолит, бронхолит, фиброз, разрушаются эпителий. Интратрахеальное воздействие НЧ CuO вызывает острое бронхоальвеолярное воспаление с диффузным отёком лёгких, что говорит о лёгочной токсичности НЧ CuO. [21]. Избыток свободных ионов меди приводит к каскаду окислительно-восстановительных реакций, ведущих к образованию АФК, которые разрушают клетку как изнутри, так и извне. Отметим, что дополнительно индуцированное перекисным окислением липидов мембран образование АФК под воздействием НЧ может приводить к потере

эластичности мембран, что, как и аномально высокая текучесть, неизбежно приводит к гибели клеток [2]. Кроме того, в отношении эссенциальных элементов, коим является медь, нельзя исключать вклад в реализацию токсического действия механизмов, предназначенных для их поступления в клетку. Так, Cuillel M. et al (2014) в экспериментах на гепатоцитах линии HepG2 показали, что НЧ проникают внутрь (вероятнее всего, путём эндоцитоза), обходя клеточные механизмы защиты от избыточной меди [22].

НЧ PbO также оказывали цитотоксическое действие (обнаружены увеличение общей клеточности и отношения НЛ/АМ – см. рис. 2, 5), но в значительно меньшей степени, чем НЧ CuO или НЧ CdO, что, вероятнее всего связано с меньшей цитотоксичностью данного элемента. Известно, что полулетальные дозы свинца и его соединений выше, чем таковые у кадмия [23].

НЧ NiO вызывали самый большой приток АМ в сравнении с другими НЧ (см. рис. 4). Нейтрофильная и лимфоцитарная воспалительная реакция появлялась через сутки после интратрахеального введения НЧ NiO в исследовании M.J. Jeong и соавт. [24]. Другие исследователи демонстрировали, что НЧ никеля приводят к окислительному стрессу, тяжелому и стойкому воспалению лёгких и фиброзу [25, 26]. В нашем исследовании введение НЧ NiO вызвало наибольшую эозинофильную реакцию по сравнению с другими НЧ. Аналогичные результаты были получены S. Lee и соавт. [27].

В ряде исследований показано, что железные НЧ обладают низкой токсичностью для лёгких *in vitro* и *in vivo* [28–30]. В нашем эксперименте НЧ Fe₂O₃ вызывали минимальный приток НЛ и снижение числа АМ, что приводило к значимому увеличению НЛ/АМ. Интересно, что и в данном случае отношение НЛ/АМ указывает на цитотоксическое действие НЧ Fe₂O₃, хотя и не вызывает активного макрофагального притока в лёгкие. Последнее может косвенно указывать на меньшее разрушение клеток, поглотивших НЧ Fe₂O₃, по сравнению с воздействием других металлооксидных НЧ.

Обобщая вышесказанное, можно заключить, что химическая природа наночастиц оказывает большое влияние на их цитотоксические свойства. При одной и той же исследуемой дозе металлооксидные частицы различной химической природы могут оказывать сильно (НЧ CuO) или слабо выраженное цитотоксическое действие (НЧ Fe₂O₃).

Ограничения исследования. Такие физические характеристики наночастиц, как растворимость в

воде и биологических жидкостях, заряд, адсорбционная способность, устойчивость к агрегации, гидрофобность, адгезия к поверхности, способность генерировать свободные радикалы, не были изучены. Экстраполяцию данных от грызунов на человека следует проводить с осторожностью, поскольку цитотоксичность охарактеризована только на основе цитологических показателей.

Заключение

Сравнительный анализ цитологических показателей жидкости бронхоальвеолярного лаважа крыс после однократного интратрахеального воздействия металлоксидных наночастиц, а именно НЧ CuO, НЧ PbO, НЧ CdO, НЧ Fe₂O₃, НЧ NiO, показал, что химическая природа наночастиц оказывает большое влияние на их цитотоксические свойства. Это может объясняться известным свойством НЧ растворяться в биологических средах организма. Обнаружено, что при одной и

той же исследуемой дозе металлоксидные частицы различной химической природы могут оказывать сильно (НЧ CuO) или слабо выраженное цитотоксическое действие (НЧ Fe₂O₃). В ряду исследованных НЧ цитотоксичность изменяется так (от наибольшей к наименьшей): НЧ CuO > НЧ CdO > НЧ PbO > НЧ NiO > НЧ Fe₂O₃.

Изменения цитологических показателей бронхоальвеолярного лаважа могут быть использованы как эффективный скрининговый метод оценки цитотоксического действия НЧ.

Благодарность. Авторы выражают благодарность коллективу Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина и лично директору УЦКП СН, профессору, д.ф.-м.н. Шуру Владимиру Яковлевичу за синтез суспензий, исследованных наночастиц заданной характеристики на базе УЦКП СН УрФУ.

ЛИТЕРАТУРА

- Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E., et al. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2014; 15(7): 12379–406.
- Sukhanova A., Bozrova S., Sokolov P., Berestovoy M., Karaulov A., Nabiev I. Dependence of Nanoparticle Toxicity on Their Physical and Chemical Properties. *Nanoscale Res. Lett.* 2018; 13(1): 44.
- Darquenne C. Aerosol deposition in health and disease. *J. Aerosol Med. Pulm. Drug. Deliv.* 2012; 25(3): 140–7.
- Prasad R.Y., McGee J.K., Killius M.G., Suarez D.A., Blackman C.F., DeMarini D.M., et al. Investigating oxidative stress and inflammatory responses elicited by silver nanoparticles using high-throughput reporter genes in HepG2 cells: effect of size, surface coating, and intracellular uptake. *Toxicol. In Vitro.* 2013; 27(6): 2013–21.
- Huang Y.W., Cambre M., Lee H.J. The Toxicity of Nanoparticles Depends on Multiple Molecular and Physicochemical Mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(12): 2702.
- Wu Y., Wang M., Luo S., Gu Y., Nie D., Xu Z., et al. Comparative Toxic Effects of Manufactured Nanoparticles and Atmospheric Particulate Matter in Human Lung Epithelial Cells. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020; 18(1): 22.
- Lin W., Huang Y.W., Zhou X.D., Ma Y. In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2006; 217(3): 252–9.
- Xie S., Zhu J., Yang D., Xu Y., Zhu J., He D. Low Concentrations of Zinc Oxide Nanoparticles Cause Severe Cytotoxicity Through Increased Intracellular Reactive Oxygen Species. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2021; 17(12): 2420–32.
- Lai X., Wei Y., Zhao H., Chen S., Bu X., Lu F., et al. The effect of Fe₂O₃ and ZnO nanoparticles on cytotoxicity and glucose metabolism in lung epithelial cells. *J. Appl. Toxicol.* 2015; 35(6): 651–64.
- Zhang X., Zhang H., Liang X., Zhang J., Tao W., Zhu X., et al. Iron Oxide Nanoparticles Induce Autophagosome Accumulation through Multiple Mechanisms: Lysosome Impairment, Mitochondrial Damage, and ER Stress. *Mol. Pharmaceutics.* 2016; 13(7): 2578–87.
- Liu N., Guan Y., Zhou C., Wang Y., Ma Z., Yao S. Pulmonary and Systemic Toxicity in a Rat Model of Pulmonary Alveolar Proteinosis Induced by Indium-Tin Oxide Nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine.* 2022; 17: 713–31.
- Lai X., Zhao H., Zhang Y., Guo K., Xu Y., Chen S., et al. Intranasal Delivery of Copper Oxide Nanoparticles Induces Pulmonary Toxicity and Fibrosis in C57BL/6 mice. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 4499.
- Sutunkova M.P., Solovyeva S.N., Minigalieva I.A., Gurvich V.B., Valamina I.E., Makeyev O.H., et al. Toxic Effects of Low-Level Long-Term Inhalation Exposures of Rats to Nickel Oxide Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(7): 1778.
- Dumková J., Smutná T., Vrlíková L., Le Coustumer P., Večeřa Z., Dočekal B., et al. Subchronic inhalation of lead oxide nanoparticles revealed their broad distribution and tissue-specific subcellular localization in target organs. *Part. Fibre Toxicol.* 2017; 14: 55.
- Morimoto Y., Izumi H., Yoshiura Y., Tomonaga T., Lee B.W., Okada T., et al. Comparison of pulmonary inflammatory responses following intratracheal instillation and inhalation of nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2016; 10(5): 607–18.
- Grommes J., Soehnlein O. Contribution of neutrophils to acute lung injury. *Mol. Med.* 2011; 17 (3–4): 293–307.
- Privalova L.I., Katsnelson B.A., Osipenko A.B., Yushkov B.N., Babushkina L.G. Response of a phagocyte cell system to products of macrophage breakdown as a probable mechanism of alveolar phagocytosis adaptation to deposition of particles of different cytotoxicity. *Environ. Health Perspect.* 1980; 35: 205–18.
- Chaudhary R.G., Bhusari G.S., Tiple A.D., Rai A.R., Somkuvar S.R., Potbhare A.K., et al. Metal/Metal Oxide Nanoparticles: Toxicity, Applications, and Future Prospects. *Curr Pharm Des.* 2019; 25(37): 4013–29.
- Karlsson 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.
- Pohanka M. Copper and copper nanoparticles toxicity and their impact on basic functions in the body. *Bratisl. Lek. Listy.* 2019; 120(6): 397–409.
- Kwon J.T., Kim Y., Choi S., Yoon B.L., Kim H.S., Shim I., et al. Pulmonary Toxicity and Proteomic Analysis in Bronchoalveolar Lavage Fluids and Lungs of Rats Exposed to Copper Oxide Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(21): 13265.
- 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; 6: 1707–15.
- The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Immediately Dangerous To Life or Health (IDLH) Values. Available online: <https://www.cdc.gov/niosh/idlh/intrid4.html> (accessed on 29 December 2022).
- Jeong M.J., Jeon S., Yu H.S., Cho W.S., Lee S., Kang D., et al. Exposure to Nickel Oxide Nanoparticles Induces Acute and Chronic Inflammatory Responses in Rat Lungs and Perturbs the Lung Microbiome. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2022; 19(1): 522.
- Bai K.J., Chuang K.J., Chen J.K., Hua H.E., Shen Y.L., Liao W.N., et al. Investigation into the pulmonary inflammation of exposure to nickel oxide nanoparticles in mice. *Nanomedicine.* 2018; 14(7): 2329–39.
- Mo Y., Zhang Y., Wan R., Jiang M., Xu Y., Zhang Q. MiR-21 mediates nickel nanoparticle-induced pulmonary injury and fibrosis. *Nanotoxicology.* 2020; 14(9): 1175–97.
- Lee S., Hwang S.H., Jeong J., Han Y., Kim S.H., Lee D.K. et al. Nickel oxide nanoparticles can recruit eosinophils in the lungs of rats by the direct release of intracellular eotaxin. *Particle and fibre toxicology.* 2016; 13(1): 30.
- Zhou Y.M., Zhong C.Y., Kennedy I.M., Pinkerton K.E. Pulmonary responses of acute exposure to ultrafine iron particles in healthy adult rats. *Environ. Toxicol.* 2003; 18(4): 227–35.
- Teeguarden J.G., Mikheev V.B., Minard K.R., Forsythe W.C., Wang W., Sharma G., et al. Comparative iron oxide nanoparticle cellular dosimetry and response in mice by the inhalation and liquid cell culture exposure routes. *Part. Fibre Toxicol.* 2014; 11: 46.
- Guo C., Weber R.J.M., Buckley A., Mazzolini J., Robertson S., Delgado-Saborit J.M., et al. Environmentally Relevant Iron Oxide Nanoparticles Produce Limited Acute Pulmonary Effects in Rats at Realistic Exposure Levels. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(2): 556.

ОБ АВТОРАХ:

Клинова Светлана Владиславовна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией промышленной токсикологии ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Россия. E-mail: klinova.svetlana@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-0927-4062>

Сутункова Марина Петровна – доктор медицинских наук, директор ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: sutunkova@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642>

Минигалиева Ильзира Амировна – доктор биологических наук, заведующая отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: ilzira-ilzira@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0002-0097-7845>

Рябова Юлия Владимировна – заведующая лабораторией научных основ биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: ryabova@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479>

Тажигулова Анастасия Валерьевна – младший научный сотрудник лаборатории научных основ биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: tazhigulovaav@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0001-9384-8550>

Привалова Лариса Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: privalovali@yahoo.com <https://orcid.org/0000-0002-1442-6737>
