

© РЯБОВА Ю.В., БУШУЕВА Т.В., МИНИГАЛИЕВА И.А., КАРПОВА Е.П., СУТУНКОВА М.П., 2023

Рябова Ю.В., Бушуева Т.В., Минигалиева И.А., Карпова Е.П., Сутункова М.П.

Изменение митохондриальной функции фибробластоподобных клеток под воздействием наночастиц оксида меди

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Митохондрии являются мишенью практически для всех типов повреждающих агентов, включая токсины и оксидативный стресс. При всесторонней оценке токсического действия не вызывает сомнений необходимость учитывать возможные митохондриальные эффекты.

Цель исследования — оценка изменений митохондриальной функции *in vitro* под воздействием наночастиц оксида меди.

Материал и методы. На монослойную культуру фибробластоподобных клеток человека линии ФЛЭЧ-104 воздействовали наночастицами оксида меди размером 21 ± 4 нм, конечная концентрация которых в среде составляла 25, 50 и 100 мкг/мл. Измеряли скорость потребления кислорода клетками и фиксировали ее изменение под воздействием модуляторов — олигомицина, карбонил-цианид-4-(трифторметокси) фенилгидразона, ротенона в комбинации с антимисином А. Рассчитывали параметры митохондриальной функции и биоэнергетический индекс.

Результаты. НЧ CuO при концентрации в инкубационной среде, равной 100 мкг/мл, вызывают в культуре фибробластоподобных клеток изменения, затрудняющие дальнейшую оценку митохондриальной функции. При концентрации НЧ CuO, равной 25 и 50 мкг/мл, наблюдалась дозозависимая тенденция к снижению АТФ-связанного дыхания и биоэнергетического индекса. НЧ CuO в концентрации 25 мкг/мл увеличивали максимальную и резервную дыхательную способность клеток, что, вероятно, связано с двойственными свойствами меди как токсиканта и биомикроэлемента.

Ограничения исследования. Исследование проведено с использованием только одной клеточной линии и 3 концентраций суспензии наночастиц в культуральной среде.

Заключение. Установлено, что наночастицы оксида меди при добавлении в инкубационную среду неоднозначно влияют на митохондриальную функцию фибробластоподобных клеток, что может быть связано с биотическими свойствами меди.

Ключевые слова: митохондрии; митохондриальная токсичность; наночастицы; медь

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует заключения этического комитета.

Для цитирования: Рябова Ю.В., Бушуева Т.В., Минигалиева И.А., Карпова Е.П., Сутункова М.П. Изменение митохондриальной функции фибробластоподобных клеток под воздействием наночастиц оксида меди. *Токсикологический Вестник*. 2023; 31(6): 392–398. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2023-31-6-392-398>

Для корреспонденции: Рябова Юлия Владимировна, заведующая лабораторией научных основ биологической профилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Участие авторов: Рябова Ю.В. – сбор и обработка материала, подготовка иллюстраций, написание текста; Бушуева Т.В. – сбор и обработка материала, написание текста; Минигалиева И.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста; Карпова Е.П. – сбор и обработка материала; Сутункова М.П. – концепция и дизайн исследования, редактирование. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Дата поступления: 31 октября 2023 / Дата принятия к печати: 03 декабря 2023 / Дата публикации: 29 декабря 2023

Ryabova Yu.V., Bushueva T.V., Minigalieva I.A., Karpova E.P., Sutunkova M.P.

Changes in the mitochondrial function of fibroblast-like cells exposed to copper oxide nanoparticles

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

ABSTRACT

Introduction. Mitochondria are targets for almost all types of damaging agents, including toxins and oxidative stress. There is no doubt that possible effects on mitochondria should be taken into account in a comprehensive assessment of metal toxicity. Our objective was to establish changes in the mitochondrial function under the effect of copper oxide nanoparticles *in vitro*.

Material and methods. A monolayer culture of human lung fibroblast-like cells of the FLECH-104 line were exposed to copper oxide nanoparticles (CuO NPs) 21 ± 4 nm in size, final concentrations of which in the media were 25, 50, and 100 $\mu\text{g/mL}$. We measured the rate of oxygen consumption by the cells and its changes under the influence of modulators, such as oligomycin, carbonyl cyanide 4-(trifluoromethoxy)phenylhydrazone, and rotenone combined with antimycin A. We estimated parameters of mitochondrial function and the bioenergetics index.

Results. At the concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ in the incubation medium, CuO NPs induced changes in the culture of fibroblast-like cells that impeded further assessment of the mitochondrial function. At the lower concentrations of 25 and 50 $\mu\text{g/mL}$, we observed a dose-dependent trend toward a decrease in ATP-related respiration and bioenergetics index. It is noteworthy that the concentration of 25 $\mu\text{g/mL}$ increased the maximum and reserve respiratory capacity of the cells, which was probably related to the dual effect of copper as a toxicant and an essential element.

Limitations of the study. The study was conducted using only one cell line and three concentrations of CuO nanoparticles suspended in the culture medium.

Conclusion. We established that copper oxide nanoparticles, when added to the incubation medium, have a multidirectional effect on the mitochondrial function of fibroblast-like cells potentially attributed to biotic properties of this metal.

Keywords: mitochondria; mitochondrial toxicity; nanoparticles; copper

Compliance with ethical standards. The study does not require the opinion of an ethics committee.

For citation: Ryabova Yu.V., Bushueva T.V., Minigalieva I.A., Karpova E.P., Sutunkova M.P. Changes in the mitochondrial function of fibroblast-like cells exposed to copper oxide nanoparticles. *Toksikologicheskii vestnik / Toxicological Review*. 2023; 31(6): 392–398. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2023-31-6-392-398> (In Russian)

For correspondence: Yuliya V. Ryabova, Head of the Laboratory of Scientific Foundations of Biological Prophylaxis, Department of Toxicology and Bioprophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Contribution of the authors: Ryabova Yu.V. – data collection and analysis, draft manuscript preparation; Bushueva T.V. – data collection and analysis, draft manuscript preparation; Minigalieva I.A. – study conception and design, draft manuscript preparation; Karpova E.P. – data collection and analysis; Sutunkova M.P. – study conception and design, editing. All co-authors – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Date of receipt: October 31, 2023 / Date of acceptance for printing: December 3, 2023 / Date of publication: December 29, 2023

Введение

Митохондрии являются одной из ключевых мишеней практически для любых повреждающих агентов, включая токсины и оксидативный стресс. Биологическая значимость нормально функционирующих митохондрий не ограничивается нормально функционирующей клеточной единицей, что объясняется тесной связью митохондрии с другими клеточными компонентами, и, в конечном счете, влиянием на физиологию целого организма. В настоящий момент митохондриальная дисфункция считается ключевым фактором множества заболеваний, включая нейродегенеративные и метаболические нарушения. При всесторонней оценке токсического действия необходимость учитывать возможные митохондриальные эффекты не вызывает сомнений.

Таким образом, целью настоящей работы являлась оценка изменений митохондриальной функции *in vitro* под воздействием наночастиц оксида меди.

Материал и методы

Экспериментальное исследование было проведено с использованием монослойной культуры фибробластоподобных клеток, полученных из лёгких 8-недельного эмбриона человека ФЛЭЧ-104 ООО «БиолоТ» (Санкт-Петербург, Россия). Культуру клеток поддерживали при 37 °C в атмосфере 5% CO₂ в питательной среде DMEM, содержащей L-глутамин, 1 г/л глюкозы, 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 0,5% гентамицина.

Суспензия наночастиц оксида меди (НЧ CuO) была получена в Центре коллективного пользова-

ния «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета с помощью лазерной абляции тонких листовых мишеней из меди 99,99% чистоты под слоем стерильной деионизированной воды. Форма и размер частиц были охарактеризованы с использованием сканирующей электронной микроскопии и графика распределения частиц по диаметру. Средний диаметр использованных наночастиц оксида меди составил 21 ± 4 нм (рис. 1). Стабильность суспензий характеризовалась величиной дзета-потенциала и была высокой (дзета-потенциал вплоть до 42 mV), что позволило путём частичного испарения воды при 50 °C повысить концентрацию в суспензии до 0,25 мг/мл без изменения размера и химической идентичности НЧ.

Для оценки цитотоксичности НЧ клетки высевали в 96-луночный планшет (TPP Techno Plastic Products AG, Trasadingen, Switzerland), 70 000 клеток на лунку в 100 мкл среды инкубировали в стандартных условиях в течение 48 ч до получения монослоя. Затем в лунки добавляли суспензию НЧ CuO и инкубировали в течение 24 ч в стандартных условиях перед проведением анализа АТФ. Конечная концентрация НЧ в среде составляла 25, 50 и 100 мкг/мл.

Скорость потребления кислорода клетками (OCR, пмоль O₂/мин) измеряли при помощи анализатора клеточного метаболизма Agilent Seahorse XF (Agilent Technologies, США). Сначала оценивали клеточное дыхание, а в дальнейшем в среду вводили модуляторы и отслеживали потребление кислорода. Были задействованы следующие модуляторы:

- олигомицин, гиперполяризованную митохондриальную мембрану, останавливая прохождение протонов;

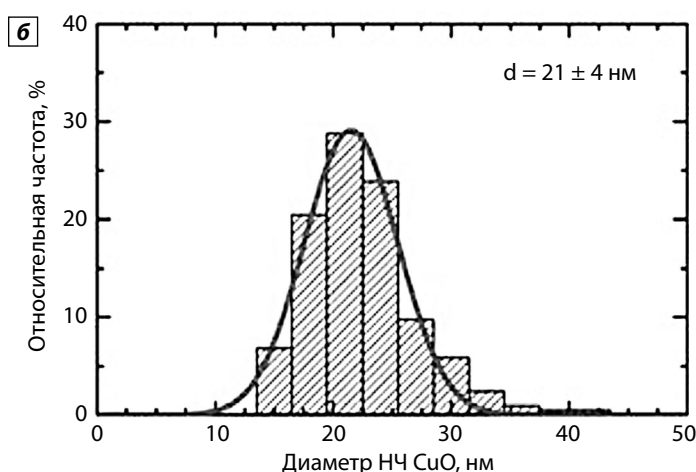
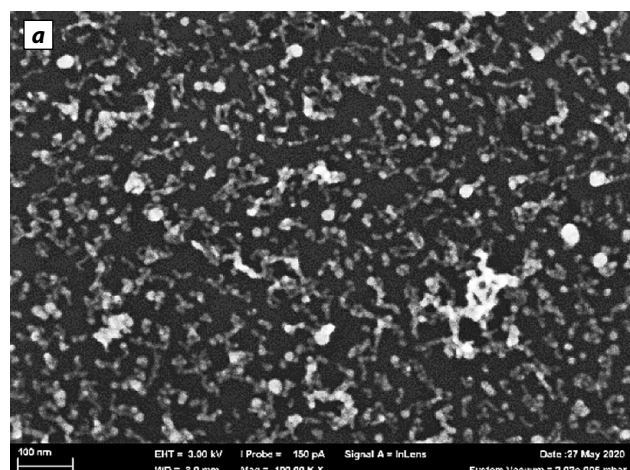


Рис. 1. СЭМ-изображение НЧ CuO (электронная микроскопия при 100 000-кратном увеличении) (а) и функция распределения их по диаметру показывающая, что средний диаметр НЧ CuO составлял 21 ± 4 нм (б).

Fig. 1. Suspended copper oxide nanoparticles (electron microscopy at 100,000× magnification) (a); the particle diameter distribution function showing that the mean diameter of CuO NPs was 21 ± 4 nm (b).

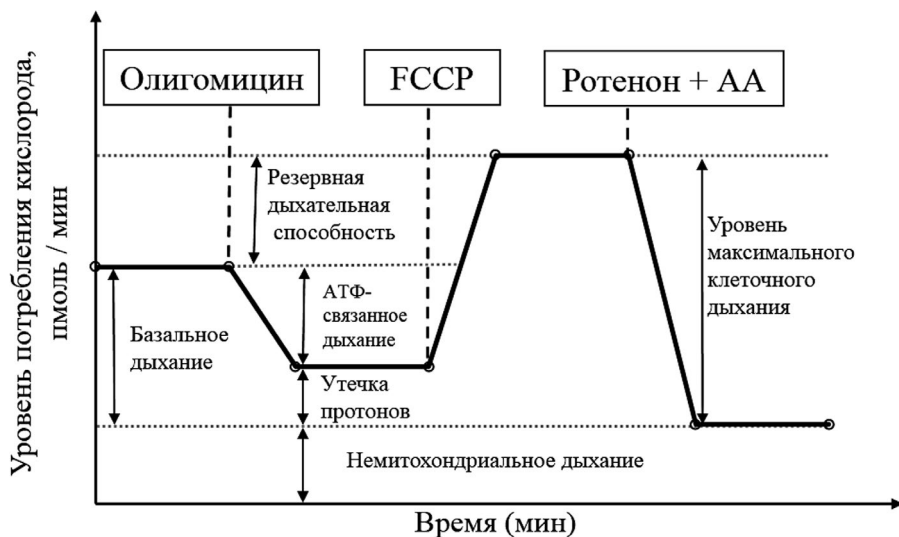


Рис. 2. Схема типичного изменения уровня потребления кислорода клетками в культуральной среде под воздействием модуляторов и показатели, необходимые для оценки митохондриальной функции [1, 2].

FCCP – карбонилцианид-4-(трифторметокси) фенилгидразон; Ротенон + АА – комбинация ротенона и антимицина А.

Fig. 2. Typical dynamics of changes in the level of oxygen consumption by cells in a culture medium under the effect of modulators and indicators necessary for assessing the mitochondrial function [1, 2].
FCCP – carbonyl cyanide-4-(trifluoromethoxy) phenylhydrazon; Rotenone + AA – a combination of rotenone and antimycin A.

- карбонилцианид-4-(трифторметокси) фенилгидразон (FCCP) разрушал градиент внутренней митохондриальной мембраны, что заставляло цепь переноса электронов функционировать с максимальной скоростью;
- ротенон + антимицин А, ингибировал комплексы I и III, полностью останавливая митохондриальное дыхание.

Далее был проведён расчёт митохондриальной функции в соответствии с теоретическим примером для каждой лунки (рис. 2) [1, 2]. Данные, полученные при добавлении олигомицина, использовали для расчёта АТФ-связанного дыхания и уровня утечки протонов. Данные, полученные при добавлении FCCP, использовались для расчёта максимального дыхания. Базальное дыхание оценивали путём вычитания немитохондриального дыхания из клеточного дыхания. Резервную ёмкость определяли путем вычита-

ния базального дыхания из максимального дыхания. Биоэнергетический индекс (БИ) рассчитывали по формуле (1) [1, 2]:

$$БИ = \frac{\text{Резервная дыхательная способность} \cdot \text{АТФ} - \text{Связанное дыхание}}{\text{Немитохондриальное дыхание} \cdot \text{Потеря протонов}} \quad (1)$$

Статистическая значимость различий между среднegrupповыми результатами оценивалась по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты

Изменение скорости потребления кислорода клетками контрольной и опытных групп при добавлении модуляторов представлено на рис. 3. При добавлении в инкубационную среду НЧ CuO в концентрации 25 и 50 мкг/мл наблюдались закономерные эффекты от введения модуляторов: понижение уровня потребления кислорода

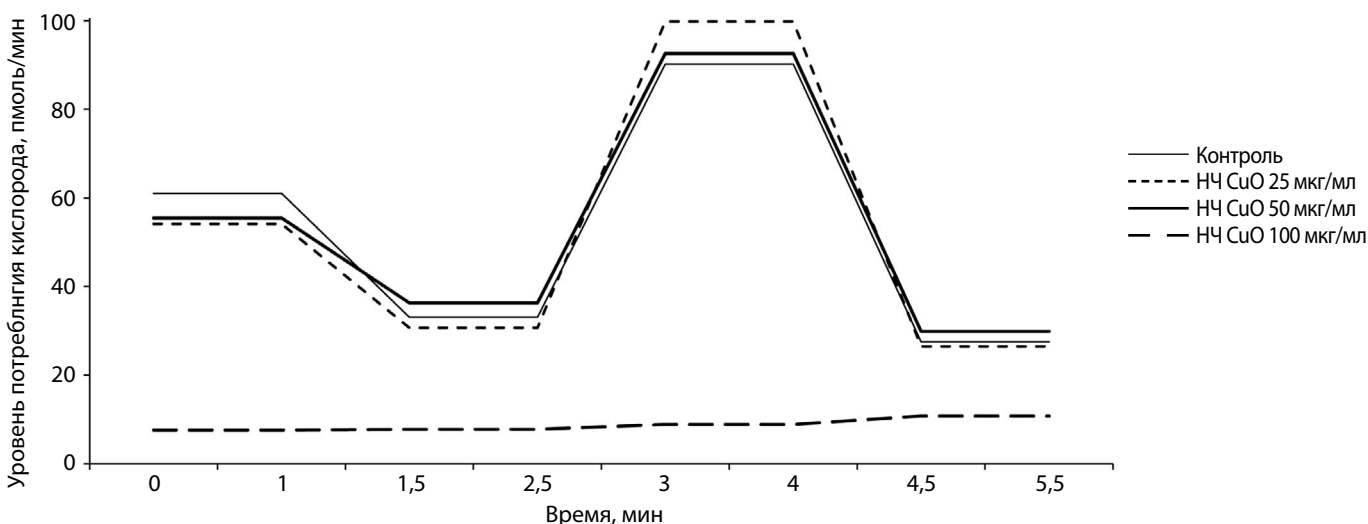


Рис. 3. Изменение скорости потребления кислорода клетками контрольной группы и групп, экспонированных НЧ CuO, при добавлении модуляторов в культуральную среду.

Fig. 3. Changes in the rate of oxygen consumption by the control cells and those exposed to CuO NPs following addition of modulators to the culture medium.

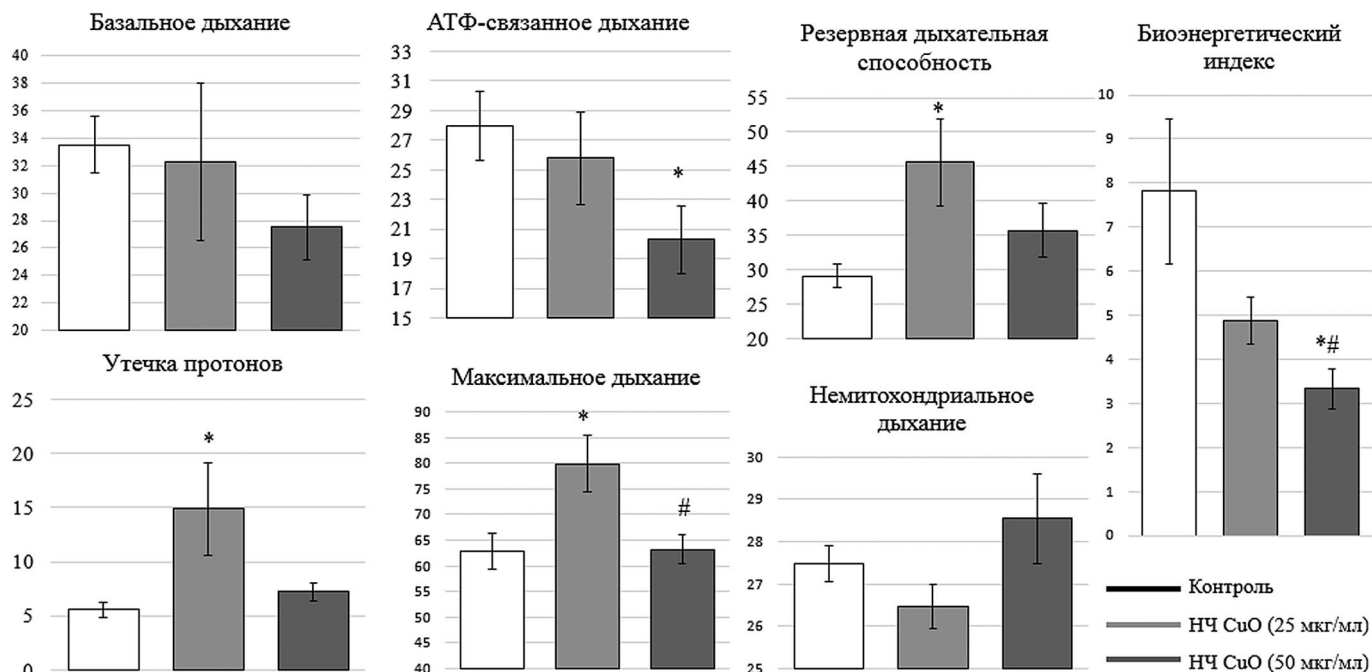


Рис. 4. Оценка метаболических изменений клеток контрольной группы и групп, экспонированных НЧ CuO. Статистически значимое отличие ($p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента): * – от контроля; # – от группы CuO (25 мкг/мл).

Fig. 4. Assessment of metabolic changes in the control cells and those exposed to CuO NPs.

Symbols indicate a statistically significant difference * from the control cells; # from the cells exposed to CuO NPs at the concentration of 25 µg/mL, $p < 0.05$ by Student's t -test.

под воздействием олигомицина, повышение под влиянием FCCP и резкое снижение после введения комбинации ротенона и антимицина А.

Оценка аспектов митохондриальной функции изученных клеток представлена на рис. 4. Поскольку НЧ CuO при концентрации в инкубационной среде, равной 100 мкг/мл, вызывали в культуре фибробластоподобных клеток выраженные изменения, заключающиеся в резком падении уровня потребляемого кислорода клетками, в дальнейшем мы не приводим эти результаты.

При концентрации НЧ CuO, равной 25 и 50 мкг/мл, наблюдалась дозозависимая тенденция к снижению АТФ-связанного дыхания и биоэнергетического индекса, статистически значимая при максимальной концентрации НЧ в инкубационной среде. НЧ CuO в концентрации 25 мкг/мл увеличивали максимальную и резервную дыхательную способность клеток, а также интенсивность утечки протонов. Уровни базального и митохондриального дыхания оставались на одном уровне с контрольной группой.

Обсуждение

НЧ CuO при концентрации в инкубационной среде, равной 100 мкг/мл, вызывали в культуре фибробластоподобных клеток выраженные изменения, затрудняющие дальнейшую оценку

митохондриальной функции. Вероятно, указанная концентрация оказалась токсичной для фибробластоподобных клеток линии ФЛЭЧ-100 и практически полностью остановила процессы жизнедеятельности. Полученные результаты противоречат данным литературы, согласно которым НЧ CuO размером $19,94 \pm 3,80$ способны подавлять пролиферацию и жизнеспособность нормальных (клеточная линия WI-38) и карциномных (линии A549) клеток лёгких при концентрации от 160 мкг/мл и выше, в то время как при концентрации 80 мкг/мл клетки демонстрируют жизнеспособность [3]. С другой стороны, вклад в гибель клеток, вероятно, внесли не только НЧ CuO, но и окислительный стресс, к которому, вероятно, использованная нами клеточная линия оказалась более чувствительна. Так, в исследовании на клеточных линиях нейробластомы человека SH-SY5Y, аденокарциномы легкого A549 и гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 при концентрации наноксида меди 150, 100, 50, 25, 10, 5 и 1 мкг/мл показано, что именно от концентрации 100 мкг/мл и выше происходит резкое увеличение содержания АФК в среде [4].

При концентрации НЧ CuO в инкубационной среде, равной 50 мкг/мл, снижение активности АТФ-связанного дыхания и биоэнергетического индекса может свидетельствовать в пользу нарушения митохондриальной функции. Способ-

ность медьсодержащих НЧ оказывать влияние на митохондриальную функцию и биоэнергетический потенциал клетки в концентрации около 50 мкг/мл подтверждается данными литературы: при воздействии НЧ CuO размером до 50 нм на клетки пупочной вены человека линии HUVES показано снижение потенциала митохондриальной мембраны [5]. Аналогичные изменения зафиксированы в другом исследовании: на клетках гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 показано, что НЧ CuO со средним диаметром 22 нм в диапазоне концентраций до 50 мкг/мл индуцируют цитотоксичность дозозависимым образом, в том числе за счёт активации митохондриального пути апоптоза (о чем судили по снижению мембранного потенциала митохондрий и увеличению экспрессии генов *bax*, *bcl2*) [6].

При концентрации НЧ CuO в инкубационной среде, равной 25 мкг/мл, повышались резервная дыхательная способность и уровень максимального дыхания, что в совокупности свидетельствует о достаточности клеточных резервов для синтеза АТФ [7]. При этом повышалась интенсивность утечки протонов, которую обычно связывают с дисфункцией митохондрий [1, 8], изменениями митохондриального мембранного потенциала и утечкой протонов через внутреннюю мембрану митохондрий [1]. Полученная нормализация этого показателя при концентрации НЧ CuO в инкубационной среде, равной 50 мкг/мл, может быть следствием приспособительных реакций оргanelл [1]. В совокупности с тенденцией к снижению биоэнергетического индекса мы можем предположить развитие некоторых негативных эффек-

тов, для полноценной реализации которых было недостаточно суточной экспозиции к НЧ CuO.

При концентрации НЧ CuO в инкубационной среде, равной 50 мкг/мл, были отмечены более выраженные эффекты, нежели чем при 25 мкг/мл: снижался уровень максимального дыхания и биоэнергетический индекс. Сходные данные были получены Prabhu и соавт.: воздействие НЧ CuO на нейроны линии DRG вызывало значительные токсические эффекты при концентрациях 40–100 мкМ, но не при 10–20 мкМ [9], однако в этом исследовании авторы использовали частицы от 40 до 80 нм, которые, вероятно, менее токсичны, чем частицы размером около 20 нм [10].

Ограничения исследования. Исследование проведено с использованием только одной клеточной линии и 3 концентраций суспензии наночастиц в культуральной среде.

Заключение

Установлено, что наночастицы оксида меди при добавлении в инкубационную среду неоднозначно влияют на митохондриальную функцию фибробластоподобных клеток, что может быть связано с биотическими свойствами меди, перешедшей из НЧ в растворенную форму в условиях культуральной среды.

Изменения в митохондриях, «энергетических станциях» клетки, имеют значение при развитии патологических состояний на уровне как отдельных органов и систем, так и целостного организма. Механизмы, лежащие в основе полученных нами негативных эффектов НЧ CuO, должны быть дополнительно изучены на уровне *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Santana-Román M.E., Maycotte P., Uribe-Carvajal S., Uribe-Alvarez C., Alvarado-Medina N., Khan M., et al. Monitoring mitochondrial function in *Aedes albopictus* C6/36 cell line during dengue virus infection. *Insects*. 2021; 12 (10): 934. <https://doi.org/10.3390/insects12100934>
2. Altintas M.M., DiBartolo S., Tadros L., Samelko B., Wasse H. Metabolic changes in peripheral blood mononuclear cells isolated from patients with end stage renal disease. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2021; 12: 629239. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.629239>
3. Fahmy H.M., Ebrahim N.M., Gaber M.H. In-vitro evaluation of copper/copper oxide nanoparticles cytotoxicity and genotoxicity in normal and cancer lung cell lines. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2020; 60: 126481. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126481>
4. Na I., Kennedy D.C. Size-specific copper nanoparticle cytotoxicity varies between human cell lines. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22 (4): 1548. <https://doi.org/10.3390/ijms22041548>
5. Zhang J., Zou Z., Wang B., Xu G., Wu Q., Zhang Y. et al. Lysosomal deposition of copper oxide nanoparticles triggers HUVES cells death. *Biomaterials*. 2018; 161: 228–39. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.01.048>
6. Siddiqui M.A., Alhadlaq H.A., Ahmad J., Al-Khedhairi A.A., Musarrat J., Ahamed M. Copper oxide nanoparticles induced mitochondria mediated apoptosis in human hepatocarcinoma cells. *PLoS One*. 2013; 8 (8): e69534. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069534>
7. Nicholls D.G. Spare respiratory capacity, oxidative stress and excitotoxicity. *Biochem. Soc. Trans.* 2009; 37 (Pt 6): 1385–8. <https://doi.org/10.1042/bst0371385>
8. Brand M.D., Nicholls D.G. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochem. J.* 2011; 435 (2): 297–312. <https://doi.org/10.1042/BJ20110162>
9. Prabhu B.M., Ali S.F., Murdock R.C., Hussain S.M., Srivatsan M. Copper nanoparticles exert size and concentration dependent toxicity on somatosensory neurons of rat. *Nanotoxicology*. 2010; 4 (2): 150–60. <https://doi.org/10.3109/17435390903337693>
10. 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. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2457-x>

ОБ АВТОРАХ:

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

Бушueva Татьяна Викторовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, заведующая НПО лабораторно-диагностических технологий ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: bushueva@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0002-5872-2001>

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

Карпова Елизавета Павловна – младший научный сотрудник НПО лабораторно-диагностических технологий ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Россия. E-mail: karpovaep@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0003-0125-0063>

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

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Yuliya V. Ryabova – Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Scientific Fundamentals of Bioprevention, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: ryabova@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479>

Tatiana V. Bushueva – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Head of Research and Production Association of Laboratory Diagnostic Technologies, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: bushueva@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0002-5872-2001>

Ilzira A. Minigalieva – Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Toxicology and Bioprophylaxis, Head of the Laboratory of Industrial Toxicology, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0002-0097-7845>

Elizaveta P. Karpova – Junior Researcher, Research and Production Association of Laboratory Diagnostic Technologies, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: karpovaep@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0003-0125-0063>

Marina P. Sutunkova – MD, director of Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: sutunkova@ymrc.ru <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642>

