DOI: https://doi.org/10.17816/humeco642454 EDN: AUCQNQ

Оценка влияния наночастиц металлов и их оксидов на элементный состав органов лабораторных животных и их способность к накоплению

И.В. Обидина, Г.И. Чурилов, Ю.Н. Иванычева, Е.М. Пронина, Т.И. Матуа, И.В. Черных

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Рязань, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Интенсивное развитие нанотехнологий, использование результатов исследований во многих отраслях промышленности, в том числе сельском хозяйстве и медицине, требуют всестороннего изучения воздействия веществ в ультрадисперсном состоянии на человека и животных. В настоящее время сведения о влиянии наночастиц на микроэлементный состав органов и тканей ограничены. Между тем с учётом растущего производства и выброса наночастиц в окружающую среду в ходе технологических процессов необходимо учитывать как прямое, так и опосредованное воздействие частиц различной химической природы.

Цель. Оценить влияние наночастиц меди (Cu), кобальта (Co) и оксида меди (CuO) на поведенческие реакции и микроэлементный состав печени, почек и репродуктивной системы лабораторных животных, а также исследовать их способность к накоплению при внутрижелудочном введении.

Материалы и методы. Эксперимент проведён на самцах мышей линии ICR, разделённых на четыре вариативных группы по 6 особей в каждой, которым вводили внутрижелудочно дистиллированную воду (контроль) или суспензии наночастиц Cu, Co и CuO в течение 20 дней один раз в день в дозах 0,02 мг/кг. Оценивали динамику массы тела, а также уровень тревожности животных (количество вертикальных стоек с опорой и без опоры и количество актов кратковременного груминга). По завершении эксперимента проводили эвтаназию, забор печени, почек и репродуктивных органов, в которых определяли микроэлементный состав методом энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного анализа.

Результаты. Введение всех протестированных наночастиц вызывало у животных проявление признаков тревожности: наблюдалось увеличение количества стоек с опорой (группа, получавшая наночастицы Co) и снижение числа стоек без опоры, сопровождавшееся увеличением актов кратковременного груминга (группы животных, получавших наночастицы Cu и CuO). В этих же группах (Cu, CuO) наблюдалось снижение массы тела животных по сравнению с контрольной группой. Анализ уровня микроэлементов в печени, почках и репродуктивных органах выявил неоднозначные изменения концентрации калия, кальция и серы, увеличение содержания кислорода в семенниках с придатками. Признаков накопления наночастиц Cu, CuO и Co в исследуемых органах не выявлено. Таким образом, токсичность наночастиц реализуется опосредованно, через изменение микроэлементного состава органов, и характеризуется быстрой элиминацией наночастиц.

Заключение. Наночастицы меди, кобальта и оксида меди оказывают разнонаправленное влияние на физиологические показатели и поведение животных, реализуемое опосредованно, через изменение элементного состава их органов. Накопления наночастиц меди, кобальта, оксида меди в исследуемых органах не обнаружено.

Ключевые слова: наночастицы; кобальт; медь; оксид меди; накопление; печень; почки; репродуктивная система; эссенциальные элементы.

Как цитировать:
Обидина И.В., Чурилов Г.И., Иванычева Ю.Н., Пронина Е.М., Матуа Т.И., Черных И.В. Оценка влияния наночастиц металлов и их оксидов на элементный состав органов лабораторных животных и их способность к накоплению // Экология человека. 2025. Т. 32, № 5. С. 334–343.
DOI: 10.17816/humeco642454 EDN: AUCQNQ

Рукопись поступила: 02.12.2024 **Рукопись одобрена:** 30.06.2025 **Опубликована online:** 17.07.2025

ЭКО • ВЕКТОР

Распространяется на условиях лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International
© Эко-Вектор, 2025

DOI: https://doi.org/10.17816/humeco642454 EDN: AUCQNQ

Evaluation of Influence of Metal Nanoparticles and Their Oxides on Elemental Composition of Organs in Laboratory Animals and Their Bioaccumulative Potential

Inna V. Obidina, Gennady I. Churilov, Yulia N. Ivanycheva, Elizaveta M. Pronina, Tamriko I. Matua, Ivan V. Chernykh

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Active development of nanotechnology and the use of research in many industries, including agriculture and medicine, require a comprehensive study of the influence of ultra dispersed substances on humans and animals. Today, we have limited evidence of the influence of nanoparticles on the microelement levels in organs and tissues. However, given the growing production and release of nanoparticles into the environment in processes, it is required to consider both the direct and indirect effects of particles of various chemical origin.

AIM: To evaluate the influence of copper, cobalt, and copper oxide nanoparticles on behavior and microelement levels in the liver, kidneys, and reproductive system in laboratory animals and to study their bioaccumulative potential upon intragastric administration.

METHODS: The experiment was conducted on male ICR mice divided into four variable groups of 6 subjects each, who were administered distilled water (control group) or 0.02 mg/kg suspensions of copper, cobalt, and copper oxide nanoparticles intragastrically for 20 days, once a day. We assessed the changes in body weight and anxiety in animals (the number of upright postures with and without support and the number of short-term grooming). At the end of the experiment, the animals were euthanized to sample the liver, kidneys, and reproductive organs and to determine the microelement levels using energy dispersive X-ray fluorescence.

RESULTS: After administration of all tested nanoparticles, the animals showed signs of anxiety, including an increased number of upright postures with support (the cobalt nanoparticle group) and a decreased number of upright postures without support accompanied by increased number of grooming acts (the copper and copper oxide nanoparticle groups). Animals of the same groups (copper and copper oxide) showed a decrease in body weight compared to the control group. An analysis of the microelement level in the liver, kidneys, and reproductive system revealed ambiguous changes in potassium, calcium, and sulfur levels and increased oxygen content in the testes and appendages. We detected no signs of bioaccumulation of copper, copper oxide, and cobalt nanoparticles in the studied organs. Thus, nanoparticles have indirect toxicity, which is manifested by changes in the microelement levels in organs and is characterized by the rapid elimination of nanoparticles.

CONCLUSION: Copper, cobalt, and copper oxide nanoparticles have a multidirectional indirect effect on the physiology and behavior of animals realized by changes in the microelement levels in their organs. We detected no accumulation of copper, cobalt, or copper oxide nanoparticles in the studied organs.

Keywords: nanoparticles; cobalt; copper; copper oxide; bioaccumulation; liver; kidneys; reproductive system; essential elements.

To cite this article:
Obidina IV, Churilov GI, Ivanycheva YuN, Pronina EM, Matua TI, Chernykh IV. Evaluation of influence of metal nanoparticles and their oxides on elemental composition of organs in laboratory animals and their bioaccumulative potential. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology).* 2025;32(5):334–343.
DOI: 10.17816/humeco642454 EDN: AUCQNQ

Received: 02.12.2024 **Accepted:** 30.06.2025 **Published online:** 17.07.2025

ECO•VECTOR

The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License
© Eco-Vector, 2025

DOI: https://doi.org/10.17816/humeco642454 EDN: AUCQNQ

金属及其氧化物纳米颗粒对实验动物器官元素组成及其蓄积能力的影响评估

Inna V. Obidina, Gennady I. Churilov, Yulia N. Ivanycheva, Elizaveta M. Pronina, Tamriko I. Matua, Ivan V. Chernykh

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

摘要

论证。纳米技术的快速发展，以及其研究成果在包括农业和医学在内的多个工业领域中的广泛应用，促使人们亟需全面研究超微颗粒物对人类和动物的影响。目前，关于纳米颗粒对器官和组织微量元素组成的影响资料仍较有限。与此同时，考虑到在技术过程中纳米颗粒产量和排放量不断增长，其进入环境后所产生的不同化学性质颗粒的直接和间接作用都应予以重视。

目的。评估铜（Cu）、钴（Co）和氧化铜（CuO）纳米颗粒在胃内给予实验动物后，对其行为反应及肝脏、肾脏和生殖系统中微量元素组成的影响，并研究其在相关器官中的蓄积能力。

材料与方法。实验在ICR系雄性小鼠中进行，将其分为四个变异组，每组6只。各组小鼠每日灌胃一次，连续20天，分别给予蒸馏水（对照组）或含有Cu、Co和CuO纳米颗粒的悬浮液，剂量均为0.02 mg/kg。评估小鼠体重变化动态及焦虑水平（包括有支撑和无支撑直立次数及短时梳理行为发生次数）。实验结束后处死动物，采集肝脏、肾脏及生殖器官，采用能量色散X射线荧光分析法测定其微量元素组成。

结果。所有测试的纳米颗粒均引发动物出现焦虑行为表现：观察到有支撑直立次数增加（接受Co纳米颗粒组），无支撑直立次数减少并伴随梳理行为次数增加（接受Cu和CuO纳米颗粒组）。在同一组别（Cu、CuO）中，观察到小鼠体重较对照组有所下降。对肝脏、肾脏和生殖器官中微量元素水平的分析显示：钾、钙和硫的浓度发生多方向变化，附睾睾丸中氧元素含量升高。未在所检测器官中发现Cu、CuO及Co纳米颗粒的蓄积迹象。由此可见，纳米颗粒的毒性是通过改变器官的微量元素组成而间接实现的，其特点是可被迅速清除。

结论。铜、钴和氧化铜纳米颗粒对实验动物的生理指标和行为表现具有多方向影响，其作用机制为通过改变器官的元素组成间接实现。在所研究的器官中未发现铜、钴及氧化铜纳米颗粒的蓄积。

关键词：纳米颗粒；钴；铜；氧化铜；蓄积；肝脏；肾脏；生殖系统；必需元素。

引用本文：
Obidina IV, Churilov GI, Ivanycheva YuN, Pronina EM, Matua TI, Chernykh IV. 金属及其氧化物纳米颗粒对实验动物器官元素组成及其蓄积能力的影响评估. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology).* 2025;32(5):334–343. DOI: 10.17816/humeco642454 EDN: AUCQNQ

收到: 02.12.2024 **接受:** 30.06.2025 **发布日期:** 17.07.2025

ECO•VECTOR
The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License
© Eco-Vector, 2025

ОБОСНОВАНИЕ

Наночастицы (НЧ) различной химической природы продуцируются в ходе промышленных процессов и образуются естественным путём в природе [1]. В организм человека из окружающей среды поступают многообразные субстанции, в том числе в нанодисперсном состоянии. Образующиеся в определённых производственных процессах НЧ и производимые для медицинских и сельскохозяйственных целей нанопорошки, помимо биологической активности, стимуляции процессов роста и развития, защиты от заболеваний, доставки к клеткам лекарственных препаратов, несут угрозу для растительного и животного организма как агенты, способные вызвать окислительный стресс и дисфункцию клеток [2, 3].

Металлы и их оксиды в ультрадисперсном состоянии имеют принципиально иные свойства в сравнении с теми же веществами в макросостоянии или в виде ионов [4]. НЧ способны преодолевать биологические барьеры, потому используются в медицине как терапевтические и диагностические инструменты [5]. Однако ряд исследований указывает на их способность вызывать оксидативный стресс, нарушать микроэлементный баланс и оказывать цитотоксическое действие [6]. В то же время имеются сообщения о быстрой элиминации НЧ без существенного накопления и выраженных токсических проявлений [7].

Диалектика данного вопроса предполагает всестороннее изучение токсикологической безопасности НЧ, воздействующих на человека, животных и растения [8, 9]. Производствам, связанным с наноматериалами, необходимо реально оценивать степень токсикологической опасности хорошо известного материала в новой, ультрадисперсной форме [10]. Для подтверждения приемлемого профиля риска необходимы исследования как *in vitro,* так и *in vivo*.

В серии предыдущих экспериментов было показано, что НЧ кобальта, меди, железа, а также оксидов меди, кобальта и цинка оказывают стимулирующее влияние на рост растений [11]. Полученные результаты демонстрировали проявление механизма малых доз и зависимость токсического или стимулирующего действия от размера и концентрации частиц [12]. В большинстве случаев НЧ размером 35–80 нм стимулировали всхожесть, энергию прорастания, активизировали минеральное питание, что подтверждалось изменением микроэлементного состава растений. Было установлено, что НЧ размером 35–60 нм, изменяя pH рабочих растворов, используемых для замачивания семян перед посадкой, могли влиять на трансмембранный потенциал клеток, а также активизировали ферменты и фитогормоны [13]. Через активацию синтеза ферментов такие частицы стимулировали углеводный и азотистый обмен, при этом их накопление в растениях не зафиксировано. В то же время ультрадисперсные оксиды металлов нередко оказывали подавляющее воздействие на ростовые показатели растений, тормозили их развитие и проявляли тенденцию к накоплению [12].

Поскольку такие НЧ применяют для обработки растений, высока вероятность их попадания в организм животных, что требует оценки их воздействия на органы и биохимические параметры. В наших предыдущих исследованиях на крысах и мышах были установлены дозы острого и хронического токсического действия НЧ меди, кобальта, оксидов меди и цинка, а также по результатам биохимического анализа установлена оптимальная доза 0,02 мг/кг, внутрижелудочное введение которой не сопровождается выраженными биохимическими и морфологическими признаками токсичности [14, 15].

Печень, почки и репродуктивные органы традиционно рассматриваются как органы-мишени при изучении токсичности новых соединений из-за их ключевой роли в процессах детоксикации, фильтрации и воспроизводства [16, 17]. Кроме того, металлы в нанодисперсном состоянии не только сами вызывают каскад ответных реакций, но могут действовать опосредованно, через изменение элементного статуса органов и тканей, сведений о таких исследованиях в литературе на данный момент недостаточно [18].

Цель исследования. Изучение влияния НЧ меди (Cu), кобальта (Co) и оксида меди (CuO) на поведение лабораторных животных, изменение массы тела, микроэлементный состав печени, почек и репродуктивной системы при хроническом внутрижелудочном введении, а также оценить способность НЧ к биоаккумуляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали НЧ меди и кобальта размером 20–50 нм, а также оксида меди размером 40–60 нм. Все наноматериалы были синтезированы в Национальном исследовательском технологическом университете «МИСиС» методом химико-металлургической металлизации соответствующих гидроксидов в токе водорода. Площадь поверхности частиц определяли методом БЭТ-адсорбции с использованием анализатора Quantachrome NOVA 1200e (Япония). Рентгенофазный анализ на дифрактометре Shimadzu XRD-7000 (Япония) подтвердил сферическую форму частиц.

Объектом исследования являлись лабораторные мыши-самцы ICR (n=24) возрастом 6 недель, массой 18–22 г (ФГБУН «Научный центр биометрических технологий Федерального медико-биологического агентства», Московская область). Животные содержались в стандартных условиях вивария (температура 22±2 °C, относительная влажность 50–60%, световой режим 12/12 ч) с доступом к воде и пище *ad libitum*.

Исследование проведено в марте 2023 г. Экспериментальная часть выполнялась в виварии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России в соответствии с международными правилами (директива 86/609/EEC) и правилами надлежащей лабораторной практики (приказ Минздрава

Российской Федерации № 199н от 01.04.1016). Протокол исследования рассмотрен и утверждён на заседании комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных № 22 от 23.01.2020. На протяжении всего периода мыши получали полнорационный гранулированный корм, сбалансированный по питательности, энергии, витаминно-минеральному составу и произведённый в соответствии с ГОСТ Р 50258-92.

Мыши были рандомизированы на четыре группы по шесть особей. Животные 1-й группы (контрольной) получали внутрижелудочно дистиллированную воду; 2-й — суспензию НЧ меди; 3-й — НЧ кобальта; 4-й — НЧ оксида меди. Суспензии НЧ готовили в концентрации 0,002 мг/мл в дистиллированной воде путём диспергирования нанопорошков в ультразвуковой ванне (Град 13–35, НТК «Солтек», Москва) мощностью 150 Вт и частотой 35 кГц в течение 15 мин. Введение осуществляли ежедневно утром, до кормления, в течение 20 сут, в дозе 10 мл/кг по МУ 1.2.2869-11 (Москва, 2011).

Массу тела животных измеряли на лабораторных весах OHAUS (дискретность — 0,01 г) до начала эксперимента, на 6, 11, 16 и 21-й дни. Ежедневно проводили внешний осмотр. Двигательную активность оценивали каждые три дня путём подсчёта вертикальных стоек (с опорой и без) в течение 2 мин в манеже из оргстекла (диаметр 135 мм, высота 350 мм). Дополнительно фиксировали количество актов груминга продолжительностью до 5 с [19].

На 21-й день животных подвергали эвтаназии методом декапитации после предварительной ингаляционной анестезии изофлураном. Проводили забор печени, почек и репродуктивной системы (семенники с придатками) в соответствии с МУ 1.2.2745-10. Органы высушивали в сушильном шкафу в течение 72 ч при температуре 75 °C, затем измельчали в фарфоровых ступках фарфоровыми пестиками.

Элементный состав тканей определяли методом энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного анализа на спектрометре Arl QuantX (Швейцария) в региональном центре зондовой микроскопии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный радиотехнический университет им. В.Ф. Уткина». Анализ выполняли с использованием программного обеспечения UniQuant с автоматической коррекцией спектральных перекрытий. Также проводили точечный анализ образцов на сканирующем электронном микроскопе JEOL JSM-6610LV с системой INCA X-MAX (определение всех элементов, кроме водорода, гелия и лития).

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 12.0. Нормальность распределения проверяли с использованием критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Обработку полученных результатов производили после дисперсионного анализа (нормальное распределение) или критерия Крускала–Уоллиса (аномальное распределение). Соответствующие показатели в каждой экспериментальной группе в конкретный день сравнивали с контролем в аналогичный день (критерий Даннета — масса тела животных и поведенческие реакции в связи с нормальным распределением; критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони — уровень эссенциальных микроэлементов в связи с аномальным распределением). Данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего (нормальное распределение) либо медианы, нижнего и верхнего квартилей (распределение, отличное от нормального). Статистически значимыми считали различия при $p < 0{,}05$, если данные распределялись нормально, и $p < 0{,}017$, если распределение данных отличалось от нормального.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Масса тела

Начальная масса тела мышей во всех группах составила в среднем 19,07±0,10 г и в группах не отличалась (p=0,987). Уже с 4-го дня эксперимента в группе, животным которой давали НЧ CuO, отмечалось снижение аппетита, что фиксировалось по увеличению остатка корма в кормушках. На 7-й день ухудшился аппетит у мышей, которым вводили нанодисперсную медь. Проводимые на 6, 11, 16 и 21-й дни взвешивания животных зафиксировали потерю в весе в группах, получавших в суспензиях медь и оксид меди. По сравнению с контрольной, масса в группе животных, получавших НЧ Cu, была ниже к финальному дню на 38,6% (разница средней массы составила 12,27±1,21 г; $p < 0{,}001$), а в группе, которая получала НЧ CuO, — на 43,9% (меньше, чем в контрольной группе на 13,97±1,46 г; $p < 0{,}001$). Особи опытной группы, которым вводили нанодисперсный кобальт, употребляли весь выданный корм и демонстрировали прибавку в весе, не имеющую значимых отличий от контроля (p=0,492; рис. 1).

Двигательная активность

Определение вертикального двигательного компонента экспериментальных животных путём подсчёта количества вставаний на задние лапы без опоры и с опорой на бортик в специальной установке проводили на 3, 6, 9, 12 и 18-й день. С 9-го дня эксперимента наблюдалось достоверное снижение количества вертикальных стоек без опоры в группе, получавшей НЧ Cu, на 21,4% (9-й день, p=0,017), 38,7% (12-й день, p=0,037), 43,8% (18-й день, p=0,002) и в группе, получавшей НЧ CuO, на 28,1% (9-й день, p=0,055), 32,25% (12-й день, p=0,011) и 40,6% (18-й день, p=0,002), при этом увеличилось число кратковременных (менее 5 с) актов груминга, что свидетельствует о снижении познавательной активности и является маркером тревожного поведения. Количество стоек с опорой на бортик в этих группах не имело существенных различий с контрольной группой (p=0,567). Животные группы, получавшей НЧ Co, начиная с 9-го дня проявили

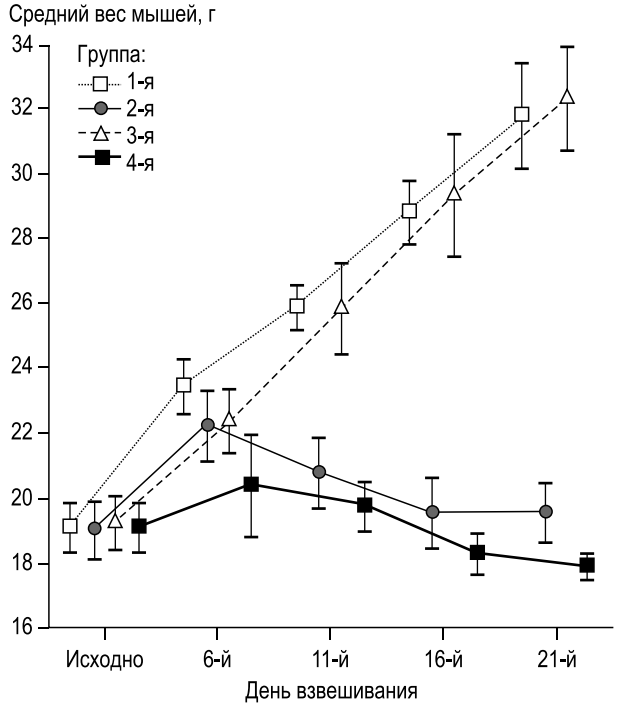

Рис. 1. Динамика массы тела мышей (г) при внутрижелудочном введении наночастиц (НЧ) в течение 21 дня, среднее значение ± стандартная ошибка среднего. * Статистически значимые различия по отношению к контролю (показатели в каждой экспериментальной группе в конкретный день наблюдения сравнивали с контролем в аналогичный день с помощью критерия Даннета); p <0,01.

Fig. 1. Changes in body weight of mice (g) with intragastric administration of nanoparticles (NPs) for 21 days (mean value ± standard error of the mean). * Significant differences in relation to the control group (each experimental group was compared with the control group on a specific day of observation using the Dunnett's test); p <0.01.

тенденцию к увеличению подъёмов на задние лапы с опорой на бортик в среднем в 1,53 раза (41,93–53,57%; p=0,013) в сравнении с контролем, сохранившуюся до конца эксперимента. При этом количество актов груминга и стоек без опоры не отличалось от контрольной группы (p=0,352).

Элементный состав биоматериалов

Количественное определение уровней меди (p=0,288), оксида меди (p=0,323) и кобальта (p=0,596) в печени, почках и репродуктивных органах не выявило статистически значимых различий между опытными и контрольной группами, что свидетельствует об отсутствии накопления исследуемых НЧ. Анализ остальных элементов выявил достоверные различия по уровням калия и кальция во всех исследованных органах, серы — в печени и репродуктивных органах, кислорода — в репродуктивных органах.

В тканях печени животных всех экспериментальных групп содержание калия в сравнении с контрольной группой было достоверно повышено. Превышение составляло в группе, получавшей НЧ Cu, 111,8% (p=0,004), в группе, получавшей НЧ Co, — 159,8% (p=0,001), в группе, получавшей НЧ CuO, — 208,1% (p=0,002). Повышенное содержание кальция, обнаруженное в группах, которым давали НЧ Co и CuO, в сравнении с контрольной группой составило 86,2% (p=0,004) и 89,4% (p=0,004) соответственно (табл. 1).

В почках в сравнении с контролем наблюдалось достоверное увеличение элементной серы (НЧ CuO) на 34,4% (p=0,001) и кальция (НЧ Co) на 30,8% (p=0,001), а в группе НЧ CuO уровень кальция понизился на 37,83% (p=0,001). При этом в группах, получавших нанодисперсные Cu и Co, был снижен уровень калия на 66,1 и 42,6% (p=0,001) соответственно (табл. 2).

Значительное снижение содержания серы в семенниках животных группы, получавшей НЧ Co, составило 83,7% (p=0,001), а в группе, которой вводили НЧ CuO, — 54,3% (p=0,001) по сравнению с контролем. Содержание

Таблица 1. Результаты измерений содержания элементов в массовых (весовых) образцах тканей печени, %
Table 1. Measurements of the elements concetration in weight samples of liver tissue, %

Группа	Калий	Кальций
1-я (контрольная)	0,259 (0,247; 0,262)	0,094 (0,077; 0,111)
2-я (получавшая наночастицы меди)	0,546 (0,532; 0,574)*	0,132 (0,114; 0,152)
3-я (получавшая наночастицы кобальта)	0,673 (0,648; 0,709)*	0,175 (0,142; 0,183)*
4-я (получавшая наночастицы оксида меди)	0,798 (0,751; 0,836)*	0,178 (0,157; 0,185)*

Примечание. * Достоверные различия в сравнении с контролем (p <0,01).

Таблица 2. Результаты измерений содержания элементов в массовых (весовых) образцах тканей почек, %
Table 2. Measurements of the elements concetration in weight samples of kidney tissue, %

Группа	Сера	Калий	Кальций
1-я (контрольная)	0,442 (0,411; 0,458)	0,183 (0,177; 0,191)	0,185 (0,169; 0,193)
2-я (получавшая наночастицы меди)	0,407 (0,387; 0,442)	0,062 (0,059; 0,071)*	0,122 (0,119; 0,137)
3-я (получавшая наночастицы кобальта)	0,518 (0,470; 0,528)	0,105 (0,103; 0,112)*	0,242 (0,238; 0,263)*
4-я (получавшая наночастицы оксида меди)	0,594 (0,575; 0,613)*	0,228 (0,221; 0,236)	0,115 (0,091; 0,120)*

Примечание. * Достоверные различия в сравнении с контролем (p <0,01).

Таблица 3. Результаты измерений содержания элементов в массовых (весовых) образцах тканей репродуктивной системы (семенники с придатками), %

Table 3. Measurements of the elements concetration in weight samples of reproductive tissue (testes and appendages), %

Группа	Сера	Калий	Кальций	Кислород
1-я (контрольная)	0,527 (0,518; 0,536)	0,229 (0,221; 0,236)	0,126 (0,112; 0,141)	15,18 (14,70; 15,71)
2-я (получавшая наночастицы меди)	0,648 (0,629; 0,707)	0,503 (0,483; 0,531)*	0,192 (0,172; 0,214)*	22,48 (14,01; 25,64)
3-я (получавшая наночастицы кобальта)	0,086 (0,079; 0,103)*	0,287 (0,265; 0,302)	0,182 (0,171; 0,194)*	22,85 (20,77; 23,87)*
4-я (получавшая наночастицы оксида меди)	0,241 (0,233; 0,271)*	0,271 (0,261; 0,277)	0,262 (0,251; 0,277)*	19,87 (19,12; 20,14)*

Примечание. * Достоверные различия в сравнении с контролем (p <0,017).

кальция, напротив, было высоким во всех экспериментальных группах: на 52,4% (НЧ Cu; p=0,005), на 44,4% (НЧ Co; p=0,004), на 107,9% (НЧ CuO; p <0,001; табл. 3).

Возрастание концентрации элементного кислорода было обнаружено в репродуктивной системе животных всех опытных групп по сравнению с контролем. Статистически значимые отличия наблюдались в двух группах и составили 50,5% (НЧ Co, p=0,001) и 30,9% (НЧ CuO, p=0,014), что может свидетельствовать о специфическом воздействии указанных НЧ на эти ткани (см. табл. 3). Содержание остальных элементов между группами достоверно не различалось (p=0,392).

ОБСУЖДЕНИЕ

Медь и кобальт играют немаловажную роль в функционировании клеток. Так, цитохром-с-оксидаза, состоящая из нескольких субъединиц, содержащих атом меди, является компонентом электрон-транспортной цепи — общего катаболического пути.

Кобальт прежде всего присутствует в молекуле цианкобаламина, входит в состав активных центров таких значимых ферментов, как метилтрансфераза, рибонуклеозидтрифосфатредуктаза, является коферментом некоторых протеолитических ферментов и способен влиять на метаболизм гема [20].

При внутрижелудочном введении протестированные НЧ, по литературным данным, способны подвергаться энтеральной абсорбции преимущественно путём клатринзависимого эндоцитоза [10, 21]. Затем они проникают в кровяное русло и доставляются к органам и тканям, где способны накапливаться [22, 23]. За выведение НЧ из организма во многом ответственны клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы, в частности макрофаги [24, 25].

Макро- и микроэлементы, в том числе кальций, калий и сера, выступают в качестве маркеров воздействия токсических агентов [26]. Согласно данным литературы, НЧ меди и кобальта могут повышать содержание в тканях таких эссенциальных элементов, как кальций, магний, железо, марганец, цинк, калий и фосфор [27, 28]. Так как лабораторные животные в течение всего периода эксперимента получали одинаковые по составу корм и воду, изменение уровня элементов в органах может быть связано с изменением их экскреции почками и перераспределением между различными органами под действием вводимых НЧ.

Увеличение содержания калия и кальция в печени и репродуктивной системе может свидетельствовать о нефротоксичности НЧ [29, 30]. Кальций является универсальным гуморальным регулятором [31]. Есть данные, что под действием НЧ развивается окислительный стресс, истощающий антиоксидантные резервы и нарушающий кальциевый гомеостаз [32]. Возможные механизмы включают приток внеклеточного кальция из-за повреждения мембран, индуцированного перекисным окислением липидов, и блокировку кальциевых каналов [33]. Увеличение уровня кальция также может быть связано с его мобилизацией из костной ткани вследствие прямого действия НЧ на остеокласты и остеобласты либо опосредованно — через гормоны паращитовидной железы.

Снижение содержания серы, особенно в репродуктивной системе, может быть связано с нарушением антиоксидантной защиты и белкового обмена. Повышение серы в почках (НЧ CuO) можно интерпретировать как адаптивный механизм — попытку компенсировать оксидативный стресс путём увеличения продукции антиоксидантных серосодержащих соединений, в частности глутатиона [34]. В то же время её снижение в репродуктивных органах (НЧ Co, CuO) указывает на возможный дефицит коферментов и истощение защитных систем [35].

Рост уровня кислорода в репродуктивных органах животных всех опытных групп может быть следствием усиленного перекисного окисления липидов, что характерно для действия НЧ металлов [36]. Это подтверждается снижением уровня серы в тех же органах и говорит о развитии некомпенсированного окислительного стресса. Данный эффект может указывать как на повышенную чувствительность репродуктивной системы к действию НЧ, так и на возможное усиление кровотока, способствующее локальному насыщению тканей кислородом.

Повышение уровня тревожности животных, наблюдаемое при введении НЧ, может быть следствием описанной выше нефротоксичности, а также, по аналогии с ранее описанными НЧ, результатом проникновения частиц через гематоэнцефалический барьер и их токсического действия на центральную нервную систему [37].

Нормальное увеличение массы тела у животных, получавших НЧ кобальта, и её снижение у особей, получавших медь и оксид меди, может быть обусловлено гастротоксическим эффектом последних [38, 39]. Отсутствие накопления меди и кобальта в органах можно объяснить их быстрой элиминацией преимущественно кишечником [40]. Выведение НЧ почками маловероятно в связи с повреждающим действием на данные органы.

Таким образом, все исследованные НЧ в дозе 0,02 мг/кг демонстрируют признаки токсичности, особенно в отношении репродуктивной системы, что согласуется с литературными данными [41, 42]. Именно поэтому при использовании НЧ в агротехнологиях, например для обработки семян, необходимо учитывать возможные риски их последующего попадания в организм животных и человека. Рекомендуется оценка доз, кратности и продолжительности воздействия НЧ, а также вегетационного периода, в течение которого следует их применять. Важно отметить, что прооксидантное действие НЧ может быть снижено за счёт оптимизации их физико-химических свойств — размера, формы, концентрации и pH растворов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

НЧ меди, кобальта и оксида меди оказывают токсическое действие при хроническом внутрижелудочном введении, проявляющееся нефротоксичностью и активацией процессов перекисного окисления липидов.

Отсутствие значимого накопления меди, оксида меди и кобальта в тканях согласуется с гипотезой о преимущественно транзиторном характере действия исследованных НЧ и их возможной быстрой элиминации из организма. Полученные данные подчёркивают необходимость дальнейших исследований механизмов воздействия НЧ на органы и системы, особенно при длительной экспозиции.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. И.В. Обидина — сбор и обработка материала, анализ данных, написание текста; Г.И. Чурилов — концепция исследования; Ю.Н. Иванычева — разработка дизайна исследования; Е.М. Пронина и Т.И. Матуа — проведение исследований; И.В. Черных — анализ данных, редактирование текста. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Этическая экспертиза. Протокол исследования рассмотрен и утверждён на заседании комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России № 22 от 23.01.2020.

Источники финансирования. Отсутствуют.

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Редакционная политика в отношении совместного использования данных к настоящей работе не применима, новые данные не собирали и не создавали.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contributions: Inna V. Obidina: investigation, data curation, formal analysis, writing—original draft; Gennady I. Churilov: conceptualization; Yulia N. Ivanycheva: methodology; Elizaveta M. Pronina and Tamriko I. Matua: investigation; Ivan V. Chernykh: formal analysis, writing—review & editing. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors made substantial contributions to the conceptualization, investigation, and manuscript preparation, and reviewed and approved the final version prior to publication).

Ethics approval: The study protocol was reviewed and approved by the meeting of the Commission for Control over Laboratory Animal Care and Use of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Ryazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (No. 22 dated January 23, 2020).

Funding sources: No funding.

Disclosure of interest: The authors have no relationships, activities, or interests for the last three years related to for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality: No previously obtained or published material (text, images, or data) was used in this study or article.

Data availability statement: The editorial policy regarding data sharing does not apply to this work, as no new data was collected or created.

Generative AI: No generative artificial intelligence technologies were used to prepare this article.

Provenance and peer review: This paper was submitted unsolicited and reviewed following the standard procedure. The peer review process involved two external reviewers, a member of the editorial board, and the in-house scientific editor.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Gmoshinski IV, Shipelin VA, Khotimchenko SA. Nanomaterials in food products and their package: comparative analysis of risks and advantages. *Health Risk Analysis*. 2018;(4):134–142. doi: 10.21668/health.risk/2018.4.16 EDN: YUGSCD
2. Vershinina IA, Lebedev SV. Investigation of the responses of the Eisenia fetida worms when copper and zinc nanoparticles are introduced into the habitat. *Bulletin of Nizhnevartovsk State University*. 2022;(1):45–54. doi: 10.36906/2311-4444/22-1/05 EDN: FYMTIA
3. Sutunkova MP, Solovyeva SN, Chernyshov IN, et al. Manifestations of subacute systemic toxicity of lead oxide nanoparticles in rats after an inhalation exposure. *Toxicological Review*. 2020;(6):3–13. doi: 10.36946/0869-7922-2020-6-3-13 EDN: GPVVHA
4. Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*. 2005;113(7):823–839. doi: 10.1289/ehp.7339
5. Chernykh IV, Kopanitsa MA, Shchulkin AV, et al. Evaluation of cytotoxicity of gold glyconanoparticles of human colon adenocarcinoma cells. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2023;31(2):255–264. doi: 10.17816/PAVLOVJ112525 EDN: BBWWHG
6. Sutunkova MP, Minigalieva IA, Privalova LI, et al. Impact of toxicity effects of zinc oxide nanoparticles in rats within acute and subacute

experiments. *Hygiene and Sanitation*. 2021;100(7):704–710. doi: 10.47470/0016-9900-2021-100-7-704-710 EDN: GTJKCC
7. Antsiferova AA, Kopaeva MYu, Kochkin VN, Kashkarov PK. Effects of long-term oral administration of silver nanoparticles on the cognitive functions of mammals. *Toxicological Review*. 2021;29(6):33–38. doi: 10.36946/0869-7922-2021-29-6-33-38 EDN: WASEGZ
8. Lutkovskaya YaV, Sizova EA, Kamirova AM. Ultrafine forms of trace elements in the diet of ruminants: impact on productivity and health. *The Agrarian Scientific Journal*. 2024;(5):96–104. doi: 10.28983/asj.y2024i5pp96-104 EDN: KQORQF
9. Onishchenko GG, Tutelyan VA, Gmoshinskiy IV, Khotimchenko SA. Evelopment of the system for nanomaterials and nanotechnology safety in Russian Federation. *Hygiene and Sanitation*. 2013;92(1):4–11. EDN: PVFGVB
10. Awashra M, Młynarz P. The toxicity of nanoparticles and their interaction with cells: an *in vitro* metabolomic perspective. *Nanoscale Adv*. 2023;5(10):2674–2723. doi: 10.1039/d2na00534d
11. Polishchuk SD, Churilov DG, Churilov GI, et al. Determining the common patterns of nanoparticle effects on physiological and biochemical processes in plants. *E3S Web of Conferences*. 2023;411:02051. doi: 10.1051/e3sconf/202341102051
12. Stepanova IA, Polischuk SD, Churilov DG, et al. Biological activity of cobalt and zinc oxide nanoparticles and their bioaccumulation on the example of vetch. *Herald of Ryazan State Agrotechnological University Named after P.A. Kostychev*. 2019;(1):62–67. EDN: EQVUFC
13. Churilov GI, Obidina IV, Churilov DG, Polishchuk SD. Influence of the size and concentration of metal nanoparticles on their biological activity. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice*. 2020;(3):62–69. EDN: KOWNLD
14. Churilov GI, Obidina IV, Churilov DG, et al. Comparative toxicological characteristics of cobalt, copper, copper oxide and zinc nanoparticles. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice*. 2020;(4):28–34. doi: 10.37882/2223-2966.2020.04.38EDN: ASCFPX
15. Stepanova IA. *Mineral and lipid metabolism indicators in livestock after administration of metal nanopowders* [dissertation]. Ryazan; 2018. 158 p. (In Russ.) EDN: GYKDWE
16. Lee IC, Ko JW, Park SH, et al. Comparative toxicity and biodistribution in rats following subchronic oral exposure to copper nanoparticles and microparticles. *Part Fibre Toxicol*. 2016;13(1):56. doi: 10.1186/s12989-016-0169-x
17. Zinkovskaya I, Ivlieva AL, Petritskaya EN, Rogatkin DA. Unexpected reproductive effect of prolonged oral administration of silver nanoparticles in laboratory mice. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2020;27(10):23–30. doi: 10.33396/1728-0869-2020-10-23-30 EDN: DMCCCS
18. Elyasin PA, Zalavina SV, Mashak AN, Skalny AV. Peculiarities of mineral exchange of liver and structure of the mesenterial lymph node of adolescent rats in conditions of lead chronic intoxication. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2018;38(6):24–28. doi: 10.15372/SSMJ20180604 EDN: YPPDUL
19. Apukhtin KV, Shevlyakov AD, Kotova MM, et al. Analyses of rodent grooming and its behavioral microstructure in modern neurobiological studies. *Russian Journal of Physiology*. 2024;110(6):889–914. doi: 10.31857/S0869813924060022 EDN: BFDDUM
20. Pronina IV, Mochalova ES, Efimova YuA, Postnikov PV. Biological functions of cobalt and its toxicology and detection in anti-doping control. *Fine Chemical Technologies*. 2021;16(4):318–336. doi: 10.32362/2410-6593-2021-16-4-318-336 EDN: SLGLNG
21. Sutunkova MP. *Toxicological-hygienic criteria and risk management for health impacts of metal-containing nanoparticles* [dissertation]. Yekaterinburg; 2019. 317 p. (In Russ.) EDN: RHVLXY
22. Zemlyanova MA, Stepankov MS, Ignatova AM. Features of bioaccumulation and toxic effects of copper (II) oxide nanoparticles under the oral route of intake into the body. *Toxicological Review*. 2021;29(6):47–53. doi:10.36946/0869-7922-2021-29-6-47-53 EDN: PHYHZY
23. Zaytsev VV. *Pharmacotoxicological properties and efficacy of cobalt and copper nanoparticle-based compounds in hypomicroelementoses* [dissertation]. Astrakhan; 2022. 155 p. (In Russ.) EDN: BFIMNX
24. Zelepukin IV. *Novel approaches to controlling nanoparticle pharmacokinetics* [dissertation]. Moscow; 2021. 109 p. EDN: HIEHCE
25. Triboulet S, Aude-Garcia C, Carrière M, et al. Molecular responses of mouse macrophages to copper and copper oxide nanoparticles: proteomic analyses. *Mol Cell Proteomics*. 2013;12(11):3108–3122. doi: 10.1074/mcp.M112.025205
26. Franovskii SYu, Turbinskii VV, Oks EI, Bortnikova SB. Elemental markers of exposure under combined oral introduction of chemical mixtures with prevalent antimony and arsenic into white Wistar rats . *Health Risk Analysis*. 2019;(3):94–103. doi: 10.21668/health.risk/2019.3.11 EDN: WGXHOB
27. Glukhcheva Y, Tinkov AA, Ajsuvakova OP, et al. The impact of perinatal cobalt exposure on iron, copper, manganese, and zinc metabolism in immature ICR mice. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2019;22(3):3–8. doi: 10.29296/25877313-2019-03-01 EDN: YWEEZL
28. Sizova EA, Miroshnikov SA, Lebedev SV, Glushchenko NN. Effect of multiple doses of nanoparticles copper on the elemental composition of rat liver. *Vestnik of the Orenburg State University*. 2012;(6):188–190. EDN: PDQWHL
29. Akhpolova VO, Brin VB. Calcium exchange and its hormonal regulation. *Journal of Fundamental Medicine and Biology*. 2017;(2):38–46. EDN: ZHRGCH
30. Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *Biomed Res Int*. 2013;2013:942916. doi: 10.1155/2013/942916
31. Sakovets TG, Bogdanov EI. Hypokalemic myoplegia. *Kazan Medical Journal*. 2013;94(6):933–938. doi: 10.17816/KMJ1822 EDN: RSHIY
32. Cremades A, Sanchez-Capelo A, Monserrat A, et al. Potassium deficiency effects on potassium, polyamines and amino acids in mouse tissues. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2003;134(3):647–654. doi: 10.1016/s1095-6433(02)00369-0
33. Huang CC, Aronstam RS, Chen DR, Huang YW. Oxidative stress and gene expression in lung cells exposed to ZnO nanoparticles. *Toxicol In Vitro*. 2010;24(1):45–55. doi: 10.1016/j.tiv.2009.09.007
34. Iskakova SA. Lipid peroxidation in organs of rats after subchronic sulfur vapor exposure. In: *The dynamics of scientific research. Ecology*. Publishing house Education and Science s.r.o.; 2008.
35. Nimni ME, Han B, Cordoba F. Are we getting enough sulfur in our diet? *Nutr Metab*. 2007;4:24. doi: 10.1186/1743-7075-4-24
36. Min Y, Suminda GGD, Heo Y, et al. Metal-based nanoparticles and their oxidative stress mechanisms. *Antioxidants*. 2023;12(3):703. doi: 10.3390/antiox12030703
37. Hersh AM, Alomari S, Tyler BM. Crossing the Blood-Brain Barrier: Advances in Nanoparticle Technology for Drug Delivery in Neuro-Oncology. *Int J Mol Sci*. 2022;23(8):4153. doi: 10.3390/ijms23084153
38. Zaitseva NV, Zemlyanova MA, Stepankov MS, Ignatova AM. Copper (II) oxide nanoparticles toxicity and potential human health hazards. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2021;28(11):50–57. doi: 10.33396/1728-0869-2021-11-50-57 EDN: BBNUWI
39. Zhang H, Wu X, Mehmood K, et al. Intestinal epithelial cell injury induced by copper nanoparticles in piglets. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2017;56:151–156. doi: 10.1016/j.etap.2017.09.010
40. Poon W, Zhang YN, Ouyang B, et al. Elimination pathways of nanoparticles. *ACS Nano*. 2019;13(5):5785–5798. doi: 10.1021/acsnano.9b01383
41. Ivlieva AL, Zinkovskaia I, Petriskaya EN, Rogatkin DA. Nanoparticles and nanomaterials as inevitable modern toxic agents. Review. Part 2. Main areas of research on toxicity and techniques to measure a content of nanoparticles in tissues. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(3):147–162. doi: 10.17816/humeco100156 EDN: CUXNFJ
42. Habas K, Demir E, Guo I, et al. Toxicity mechanisms of nanoparticles in the male reproductive system. *Drug Metab Rev*. 2021;53(4):604–617. doi: 10.1080/03602532.2021.1917597

ОБ АВТОРАХ

*** Обидина Инна Вячеславовна**, канд. биол. наук, доцент;
адрес: Россия, 390000, Рязань, ул. Маяковского, д. 105;
ORCID: 0000-0002-7235-6415;
eLibrary SPIN: 8087-7620;
e-mail: inna.obidina@mail.ru

Чурилов Геннадий Иванович, д-р биол. наук, профессор;
ORCID: 0000-0002-4056-9248;
eLibrary SPIN: 2096-4817;
e-mail: genchurilov@yandex.ru

Иванычева Юлия Николаевна, канд. биол. наук, доцент;
ORCID: 0009-0007-6930-7296;
eLibrary SPIN: 1636-3360;
e-mail: julnic79@mail.ru

Пронина Елизавета Михайловна;
e-mail: pronina.em2002@yandex.ru

Матуа Тамрико Игоревна;
e-mail: matua.2001@mail.ru

Черных Иван Владимирович, д-р биол. наук, доцент;
ORCID: 0000-0002-5618-7607;
eLibrary SPIN: 5238-6165;
e-mail: ivchernykh88@mail.ru

AUTHORS' INFO

*** Inna V. Obidina**, Cand. Sci. (Biology); Associate Professor;
address: 105 Mayakovsky st, Ryazan, Russia, 390000;
ORCID: 0000-0002-7235-6415;
eLibrary SPIN: 8087-7620;
e-mail: inna.obidina@mail.ru

Gennady I. Churilov, Dr. Sci. (Biology), Professor;
ORCID: 0000-0002-4056-9248;
eLibrary SPIN: 2096-4817;
e-mail: genchurilov@yandex.ru

Yulia N. Ivanycheva, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor;
ORCID: 0009-0007-6930-7296;
eLibrary SPIN: 1636-3360;
e-mail: julnic79@mail.ru

Elizaveta M. Pronina;
e-mail: pronina.em2002@yandex.ru

Tamriko I. Matua;
e-mail: matua.2001@mail.ru

Ivan V. Chernykh, Dr. Sci. (Biology), Associate Professor;
ORCID: 0000-0002-5618-7607;
eLibrary SPIN: 5238-6165;
e-mail: ivchernykh88@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author