

Читайте
онлайнRead
online

Клинова С.В.¹, Минигалиева И.А.¹, Сутункова М.П.^{1,2}, Валамина И.Е.²,
Герцен О.П.³, Никитина Л.В.³, Рябова Ю.В.¹, Шаихова Д.Р.¹, Шеломенцев И.Г.¹,
Мустафина И.З.⁴, Орлов М.С.⁴

Новый подход к оценке кардиовазотоксического действия наночастиц на организм в токсикологическом эксперименте

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский—научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 620014, Екатеринбург, Россия;

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 620028, Екатеринбург, Россия;

³ФБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, 620078, Екатеринбург, Россия;

⁴ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», 125993, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Исследование кардиовазотоксического эффекта наночастиц — это многоэтапный и сложный процесс, в котором применяется комплексный подход. В токсикологическую практику наряду с общепринятыми методами исследования активно внедряются молекулярно-биологические методы исследования с использованием высокочувствительного оборудования.

Цель исследования — изучение нового подхода к оценке кардиовазотоксического действия наночастиц от молекулярного уровня до функционального ответа целостного организма.

Материалы и методы. Для оценки кардиовазотоксического действия наночастиц на организм крыс изучали изменения на молекулярном (соотношение тяжёлых цепей миозина), субклеточном (исследование на электронном микроскопе), клеточно-тканевом (гистологический анализ) и системно-органном уровнях (неинвазивная регистрация электрокардиограммы и параметров артериального давления, определение биохимических показателей сыворотки крови). Предлагаемый методический подход был апробирован в экспериментальном исследовании на крысах при воздействии наночастиц оксидов свинца и кадмия.

Результаты. В результате проведённых токсикологических исследований в соответствии с разработанной системой оценки кардиотоксичности наночастиц был показан кардиовазотоксический эффект изолированного и комбинированного действия оксидов свинца и кадмия.

Ограничения исследования. Изучены основные показатели кардиовазотоксического действия наночастиц на организм в токсикологическом эксперименте только на одном виде животных (лабораторная крыса) с использованием одной дозы и одного вида наночастиц.

Заключение. Анализ данных выявил разную степень проявления кардиотоксичности наночастиц на молекулярном, внутриклеточном, клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях. Применение данного подхода позволит дать углублённую оценку воздействию частиц нанометрового диапазона на сердце и сосуды для выявления рисков возникновения болезней сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: кардиотоксичность; наночастицы; сердечно-сосудистая система; подход к оценке кардиотоксичности; экспериментальные исследования; экспериментальные модели *in vitro*; экспериментальные модели *in vivo*; крысы

Соблюдение этических стандартов. Протокол исследования одобрен Локальным независимым этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол № 2 от 20.04.2021 г.).

Для цитирования: Клинова С.В., Минигалиева И.А., Сутункова М.П., Валамина И.Е., Герцен О.П., Никитина Л.В., Рябова Ю.В., Шаихова Д.Р., Шеломенцев И.Г., Мустафина И.З., Орлов М.С. Новый подход к оценке кардиовазотоксического действия наночастиц на организм в токсикологическом эксперименте. *Гигиена и санитария*. 2024; 103(9): 1017–1024. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-9-1017-1024> <https://elibrary.ru/vwrukq>

Для корреспонденции: Клинова Светлана Владиславовна, e-mail: klinova.svetlana@gmail.com

Участие авторов: Клинова С.В. — дизайн исследования, проведение эксперимента, сбор и обработка данных, написание текста, подготовка рисунков; Минигалиева И.А., Сутункова М.П., Никитина Л.В. — концепция и дизайн исследования, научное редактирование; Валамина И.Е., Шеломенцев И.Г. — сбор и обработка данных, написание текста, подготовка рисунков; Герцен О.П. — проведение эксперимента, сбор и обработка данных; Рябова Ю.В., Шаихова Д.Р. — сбор и обработка данных, написание текста; Мустафина И.З., Орлов М.С. — научное редактирование. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Изучение изменения соотношения тяжёлых цепей миозина осуществлялось в рамках государственной программы № 122022200089–4 (ИИФ УрО РАН).

Поступила: 19.04.2024 / Принята к печати: 23.09.2024 / Опубликовано: 16.10.2024

Svetlana V. Klinova¹, Ilzira A. Minigalieva¹, Marina P. Sutunkova^{1,2}, Irene E. Valamina², Oksana P. Gerzen³, Larisa V. Nikitina³, Yuliya V. Ryabova¹, Daria R. Shaikhova¹, Ivan G. Shelomentsev¹, Ilna Z. Mustafina⁴, Mihail S. Orlov⁴

A novel approach to assessing cardiotoxic effects of nanoparticles in a toxicological experiment

¹Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation;

²Ural State Medical University, Yekaterinburg, 620028, Russian Federation;

³Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620078, Russian Federation;

⁴Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, 125993, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The study of nanoparticles for potential cardiotoxic effects is a comprehensive multi-stage process based on an integrated approach. Along with generally accepted research methods, molecular biology techniques using modern highly sensitive equipment are being actively introduced into toxicology testing.

The aim of the study was to describe a novel approach to assessing cardiotoxic effects of nanoparticles, from the molecular level to the functional response of the whole organism.

Materials and methods. Our new approach to assessing cardiotoxic effects of nanoparticles in rats included the examination of changes at the molecular (e.g., the ratio of myosin heavy chains), subcellular (by electron microscopy), cellular and tissue (by histological testing), system and organ (by non-invasive recording of electrocardiogram and blood pressure parameters and biochemical testing of blood serum) levels. We have tested the proposed approach by evaluating lead (PbO) and cadmium oxide (CdO) nanoparticles in rats.

Results. Hypotension observed after PbO and/or CdO nanoparticle exposure indicates the damage to the vascular bed due to penetration and accumulation of the nanoparticles in vascular cells, as well as direct damage to the endothelium, increased oxidative stress, and inflammation. In accordance with the system for assessing nanoparticle-induced cardiotoxicity developed on the basis of toxicology test results, lead and cadmium oxides, both separately and combined, have a pronounced cardiotoxic effect.

Limitations. Our work was limited to examining the main indicators of the cardiotoxic effects of nanoparticles in a toxicological experiment on one animal species (rats).

Conclusion. The data analysis revealed varying degrees of manifestation of nanoparticle cardiotoxicity, both at the molecular level and at the intracellular, cellular, tissue, organ, and body levels. The use of this approach will allow a better in-depth assessing effects of nano-sized particles on the heart and blood vessels for identification of risks for cardiovascular disease.

Keywords: cardiotoxicity; nanoparticles; cardiovascular system; approach to assessing cardiotoxicity; experimental studies; in vitro experimental models; in vivo experimental models; rats

Compliance with ethical standards. The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used Experimental and other Scientific Purposes. The study design was approved by the institutional Ethics Committee of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers (protocol No. 2 of April 20, 2021).

For citation: Klinova S.V., Minigalieva I.A., Sutunkova M.P., Valamina I.E., Gerzen O.P., Nikitina L.V., Ryabova Yu.V., Shaikhova D.R., Shelomentsev I.G., Mustafina I.Z., Orlov M.S. A novel approach to assessing cardiotoxic effects of nanoparticles in a toxicological experiment. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2024; 103(9): 1017–1024. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-9-1017-1024> <https://elibrary.ru/vwrukq> (In Russ.)

For correspondence: Svetlana V. Klinova, e-mail: klinova.svetlana@gmail.com

Contribution: Klinova S.V. – study design, conducting the experiment, data collection and analysis, writing text, figure preparation; Minigalieva I.A., Sutunkova M.P., Nikitina L.V. – study conception and design, scientific editing; Valamina I.E., Shelomentsev I.G. – data collection and analysis, draft manuscript and figure preparation; Gerzen O.P. – conducting the experiment, data collection and analysis; Ryabova Yu.V., Shaikhova D.R. – conducting the experiment, data collection and analysis; Mustafina I.Z., Orlov M.S. – scientific editing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of its final version.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study of changes in the ratio of myosin heavy chains was carried out within the framework of the state. program No. 122022200089-4 (Institute of Immunology and Physiology Ural Branch RAS).

Received: April 19, 2024 / Accepted: September 23, 2024 / Published: October 16, 2024

Введение

Воздействие загрязнителей производственной среды и среды обитания вызывает патофизиологические изменения во всех системах организма. Большинство известных токсикантов, в том числе наноразмерных, оказывает кардиовасотоксическое действие и тем самым увеличивает риск возникновения сердечно-сосудистых патологий. Накопленные на современном этапе данные свидетельствуют о потенциальных краткосрочных и долгосрочных вредных последствиях, в том числе для сердечно-сосудистой системы. По информации Всемирной организации здравоохранения (статистические данные за период с 2000 по 2019 г.), болезни сердца занимают первое место среди причин смертности и инвалидности [во всём мире [1, 2]. С начала века число смертей от

болезней сердечно-сосудистой системы (ССС) увеличилось на два миллиона, а уже в 2019 г. почти достигло девяти миллионов. Болезни сердца составляют 16% всех случаев смерти в мире [3]. В Российской Федерации некоторые болезни сердечно-сосудистой системы, в том числе характеризующиеся повышенным кровяным давлением, внесены в перечень социально значимых, их широкая распространённость остаётся ключевой проблемой здравоохранения.

В современных экспериментальных исследованиях влияние НЧ на ССС оценивают с помощью электрокардиограммы (ЭКГ), регистрации артериального давления (АД), ультразвукового исследования сердца модельных животных [4]. С целью нивелирования влияния внутренних факторов организма на сердечную мышцу используют методы Лангендорфа и Нилли [5–7]. Сократительную функцию миокарда

оценивают *in vitro* на препаратах изолированных сердечных мышечных волокон (трабекулы и папиллярные мышцы) [8] и изолированных кардиомиоцитах, путём измерения параметров потенциала покоя и действия мембран клеток, динамики внутриклеточного кальция и сократимости клеток, а также образования АФК [9]. При гистоморфометрической оценке сердца и сосудов особое внимание обращают на толщину стенок аорты, определяют состояние кардиомиоцитов, наличие общепатологических процессов, характеристики сердечного миозина (соотношение тяжёлых цепей миозина, скорость скольжения тонкого филамента по миозину) [10–12], экспрессию некоторых генов, данные биохимического анализа крови [13]. Переход к персонализированной медицине позволяет сделать более точный прогноз развития патологий и разработать индивидуальный план лечения, при этом всё большее значение приобретают молекулярно-генетические методы.

Несмотря на множество опубликованных отечественными и зарубежными коллективами исследований, не существует комплексного подхода, позволяющего провести адекватную оценку воздействия НЧ на состояние ССС. В нашей работе предложен комплексный подход к изучению кардиовазотоксического действия — от молекулярно-биологических до токсикологических тестов и специальных кардиологических исследований. Это позволит наиболее эффективно провести полную оценку риска для здоровья.

Материалы и методы

Успех экспериментального исследования в значительной степени зависит от своевременного получения полной информации о результатах, полученных другими учёными. Сбор, анализ и систематизацию литературных данных о кардиовазотоксическом действии исследуемых НЧ осуществляли на этапе планирования токсикологического эксперимента. В анализ были включены экспериментальные (*in vitro*, *in vivo*) и эпидемиологические исследования.

Затем был проведён токсикологический эксперимент на белых беспородных лабораторных крысах с комплексной оценкой изменений со стороны ССС после периода экспозиции, что рекомендовано для всестороннего анализа состояния исследуемой системы на разных уровнях организации живого организма — от молекулярного до системно-органного. Из пяти предложенных категорий оценивали как минимум две¹:

- на системно-органном уровне определяли состояние исследуемой системы — параметры ЭКГ и АД методом неинвазивной регистрации. На ЭКГ учитывали частоту сердечных сокращений (ЧСС), амплитуды зубцов P, R, T, продолжительность интервалов RR, PQ, QT, QRS. В соответствии с методическими документами² учитывали систолическое, диастолическое, среднее, пульсовое АД, минутный объём крови;
- на тканево-клеточном уровне проводили гистоморфологическую оценку тканей сердца и сосудов с использованием морфометрии (определение размеров кардиомиоцитов, числа ядер на единицу площади препарата, ядерно-цитоплазматических отношений в миокарде и толщины функциональных слоёв стенок сосудов);
- на клеточном и субклеточном уровнях проводили электронно-микроскопическое исследование патологических изменений в сердце после воздействия НЧ. Было изучено состояние некоторых органелл, в том числе

миофибрилл и митохондрий. Особое внимание уделяли их внутреннему пространству, поскольку сокращение поперечнополосатых мышц непосредственно зависит от миофибрилл, а митохондрии обеспечивают клеточное дыхание, в результате которого энергия высвобождается или аккумулируется в легко используемой форме;

- на молекулярном уровне соотношения тяжёлых цепей миозина оценивали методом гель-электрофореза в полиакриламидном геле (SDS-ПААГ), а экспрессию генов семейства *CYP1* (в частности, *CYP1A1*, *CYP1A2*) — методом полимеразной цепной реакции в реальном времени;
- на уровне целого организма по показателям, характеризующим состояние изучаемой системы, выполняли биохимический анализ сыворотки крови: оценивали активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и её изоферментов², уровень кальция, С-реактивный белок (СРБ), креатинкиназу (КК), креатинкиназу-МВ (КК-МВ), тропонин I, ангиотензинпревращающий фермент (АПФ), миоглобин, натрийуретические пептиды, фактор роста эндотелия сосудов (*англ.* vascular endothelial growth factor, VEGF), эндотелин-1.

Статистическая обработка данных. В качестве статистических выборок использовали данные, полученные для каждой группы крыс. Предварительно формировали базу данных (сбор результатов по каждой экспериментальной единице в структурированные таблицы, организация данных для снижения вероятности ошибок и аномалий, устранение дублированных данных или нерелевантной информации). Методом объединения выборок определяли комплексное среднее значение и его стандартную ошибку [14, 15]. Все данные проверяли на нормальность распределения, а затем оценивали значимость межгрупповых различий с помощью критериев для независимых выборок. При нормальном распределении использовали *t*-критерий Стьюдента, при отсутствии нормального распределения предпочтение отдавали *U*-критерию Манна — Уитни.

Оценка кардиовазотоксического действия НЧ. Анализ литературы выявил лишь одно исследование, посвящённое кардиотоксическому действию наночастиц оксида свинца. Elgharabawy R.M. с соавт. [16] продемонстрировали, что белые крысы, получавшие НЧ PbO внутрижелудочно с помощью зонда на протяжении 28 дней, показали значимое изменение гемодинамических параметров, биохимических показателей, маркёров окислительного стресса и гистоморфологических параметров структур сердечной мышцы. Исследовательским коллективом были обнаружены изменения систолического, диастолического и среднего артериального давления, а также частоты сердечных сокращений. Оценку антиоксидантной функции проводили по снижению уровня каталазы, супероксиддисмутазы, восстановленного глутатиона и тиобарбитуровой кислоты в тканях сердца. Опытная группа демонстрировала заметно более высокие по сравнению с контрольной уровни лактатдегидрогеназы, креатинкиназы, креатинкиназы-МВ в сыворотке крови. При гистологическом исследовании тканей сердца в группе, получавшей наночастицы оксида свинца, были обнаружены признаки повреждения с изменениями в миофибриллярной структуре, накопленным ядерным пикнозом и инвазией лейкоцитов.

Для оценки кардиовазотоксического действия НЧ в экспериментальном исследовании была использована балльная система, которая представлена в табл. 1 в соответствии с методическим документом МР 1.2.0329–23.

В соответствии с тем же методическим документом¹ была произведена оценка выраженности кардиотоксического действия (табл. 2).

Апробацию методического подхода выполняли с помощью оценки влияния наночастиц оксидов свинца (НЧ PbO) и кадмия (НЧ CdO) на белых лабораторных беспородных крыс при субхроническом внутрибрюшинном введении суспензий наночастиц изолированно и в комбинации три раза в неделю (всего 18 введений) [8, 17].

¹ МР 1.2.0329–23 «Методические рекомендации по оценке кардиотоксического действия наночастиц на организм». Утв. руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 26.06.2023 г. (далее — МР 1.2.0329–23).

² Методические указания «Ускоренная оценка действия химических соединений на сердечно-сосудистую систему в эксперименте с целью гигиенического нормирования». Утв. заместителем Главного государственного санитарного врача СССР 31.12.1987 г. № 4546–87 (далее — МУ № 4546–87).

Таблица 1 / Table 1

Оценка кардиовазотоксического действия НЧ в экспериментальном исследовании

Evaluation of cardiotoxic effects of nanoparticles in an experimental study

Показатель Indices	Возможное состояние признака Potential state of the attribute	Балл Score
<i>Данные литературы / Published data</i>		
Данные литературы о кардиотоксичности НЧ в экспериментах <i>in vitro</i> Reported data on cardiotoxicity of nanoparticles <i>in vitro</i>	Данные об изменениях в культуре кардиомиоцитов или в изолированных кардиомиоцитах Data on changes in the cardiomyocyte culture or isolated cardiomyocytes	0.5
	Данные об изменениях в культуре клеток стенок сосудов или в изолированных сосудах Data on changes in cell culture of vessel walls or in isolated vessels	0.5
Данные литературы о кардиотоксичности НЧ в экспериментах <i>in vivo</i> Reported data on cardiotoxicity of nanoparticles <i>in vivo</i>	Исследования на холоднокровных животных / Experiments on cold-blooded animals	0.5
	Исследования на теплокровных животных (учитываются изменения, не входящие в перечень ниже) Experiments on warm-blooded animals (changes not included in the list below are taken into account)	0.5
Эпидемиологические данные о кардиотоксичности НЧ Epidemiological data on cardiotoxicity of nanoparticles	Данные о кардиотоксическом действии исследуемых НЧ на человека Data on cardiotoxic effects of nanoparticles in humans	2
<i>Методы исследования изменений CCC in vivo / In vivo methods of testing for changes in cardiovascular system</i>		
Показатели электрокардиограммы Electrocardiogram readings	Показатели не отличаются от контрольной группы Readings do not differ from those in the control group	0
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы один или два показателя One or two readings are statistically different from those in controls	2
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы более двух показателей More than two readings are statistically different from those in controls	4
Показатели АД Blood pressure readings	Показатели не отличаются от контрольной группы Readings do not differ from those in the control group	0
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы один или два показателя One or two readings are statistically different from those in controls	2
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы более двух показателей More than two readings are statistically different from those in controls	4
<i>Гистологические исследования / Histological tests</i>		
Гистоморфометрические показатели сердца Histomorphometric parameters of the heart	Показатели не отличаются от контрольной группы Readings do not differ from those in the control group	0
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы один или два показателя One or two parameters are statistically different from those in controls	1
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы более двух показателей More than two parameters are statistically different from those in controls	2
Гистоморфометрические показатели аорты Histomorphometric parameters of the aorta	Показатели не отличаются от контрольной группы Readings do not differ from those in the control group	0
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы один или два показателя One or two parameters are statistically different from those in controls	1
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы более двух показателей More than two parameters are statistically different from those in controls	2
<i>Молекулярные исследования / Molecular tests</i>		
Характеристика миозина Characteristics of myosin	Показатель не отличается от контрольной группы / Index is similar to that in the control group	0
	Показатель статистически значимо отличается от контрольной группы Index is statistically different from that in controls	3
Экспрессия генов семейства CYP CYP gene expression	Показатели не отличаются от контрольной группы Readings do not differ from those in the control group	0
	Хотя бы один показатель статистически значимо отличается от контрольной группы At least one reading is statistically different from that in controls	3
<i>Биохимические исследования / Biochemical tests</i>		
Показатели крови Blood counts	Показатели не отличаются от контрольной группы Readings do not differ from those in the control group	0
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы один или два показателя One or two indices are statistically different from those in controls	1
	Статистически значимо отличаются от контрольной группы более двух показателей More than two indices are statistically different from those in controls	2

Таблица 2 / Table 2

Оценка кардиотоксического действия НЧ в экспериментальном исследовании**Evaluation of cardiotoxicity of nanoparticles (NPs) in an experimental study**

Сумма баллов Total score	Значение Value
0	НЧ не обладают кардиотоксическим действием NPs have no cardiotoxic effect
0.5–5.5	НЧ обладают умеренным кардиотоксическим действием NPs possess of a moderate cardiotoxic effect
6–24	НЧ обладают выраженным кардиотоксическим действием NPs possess of a pronounced cardiotoxic effect

Результаты

Зафиксированное по завершении экспериментального исследования снижение уровня АД после воздействия НЧ оксидов свинца и кадмия представлено на рис. 1.

Данные свидетельствуют об уменьшении количества эндотелина-1 и АПФ, которые по своей природе являются мощными вазоконстрикторами (рис. 2, а, б). Было продемонстрировано снижение мозгового натрийуретического пептида (см. рис. 2, а).

Показаны низкий уровень эндотелина-1 (рис. 2, в) и уменьшение толщины эндотелия (рис. 3, б).

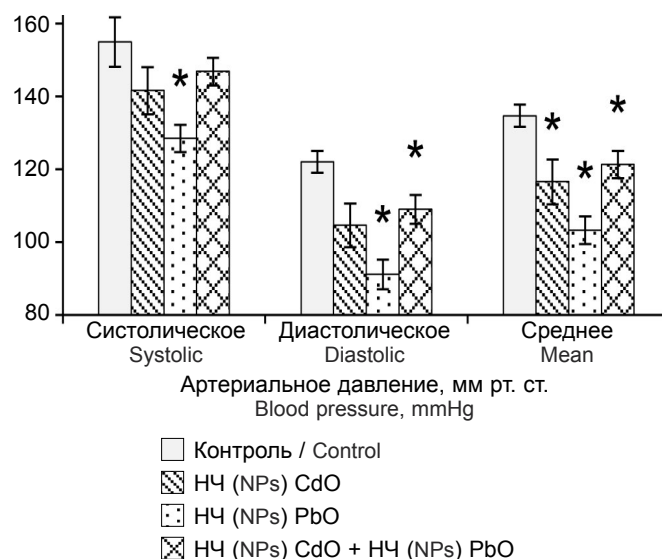


Рис. 1. Снижение параметров АД после субхронического внутрибрюшинного воздействия суспензиями НЧ PbO и НЧ CdO; * – статистически значимое отличие от контроля; данные представлены в виде $\bar{X} \pm Sx$.

Fig. 1. Decrease in blood pressure parameters after subchronic intraperitoneal exposure to suspended lead oxide (PbO) and cadmium oxide (CdO) NPs, $\bar{X} \pm Sx$; * – statistically different from the controls.

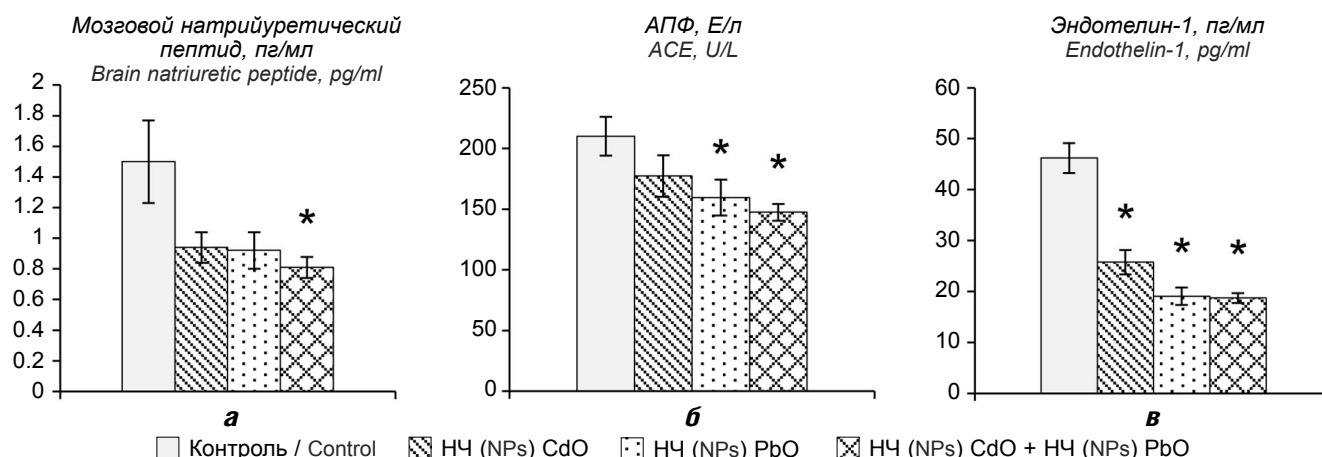


Рис. 2. Снижение вазоактивных веществ в сыворотке крови после субхронического внутрибрюшинного воздействия суспензиями НЧ PbO и НЧ CdO; * – статистически значимое отличие от контроля; а) мозгового натрийуретического пептида, пг/мл; б) АПФ, Е/л; в) эндотелина-1, пг/мл; данные представлены в виде $\bar{X} \pm Sx$.

Fig. 2. Decrease in blood vasoactive substances after subchronic intraperitoneal exposure to suspended PbO and CdO NPs, $\bar{X} \pm Sx$; * – statistically different from the controls: а) brain natriuretic peptide, pg/mL; б) ACE, E/L; в) endothelin-1, pg/mL.

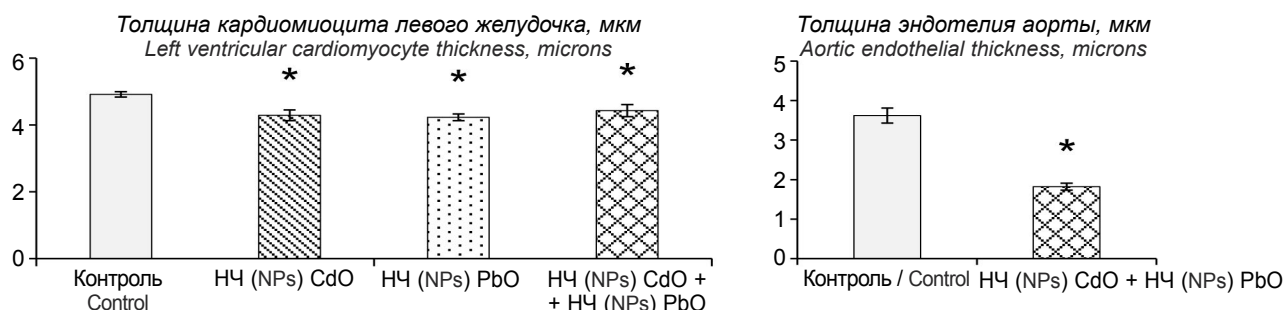


Рис. 3. Изменение тканей сердца и аорты крыс после субхронического внутрибрюшинного воздействия суспензиями НЧ PbO и НЧ CdO при гистологическом исследовании; * – статистически значимое отличие от контроля; а) снижение толщины кардиомиоцита, мкм; б) снижение толщины эндотелия, мкм; данные представлены в виде $\bar{X} \pm Sx$.

Fig. 3. Histological changes in the heart and aorta in rats after subchronic intraperitoneal exposure to suspended PbO and CdO NPs, $\bar{X} \pm Sx$; * – statistically different from the controls: а) a decrease in cardiomyocyte thickness, μm ; б) a decrease in endothelial thickness, μm

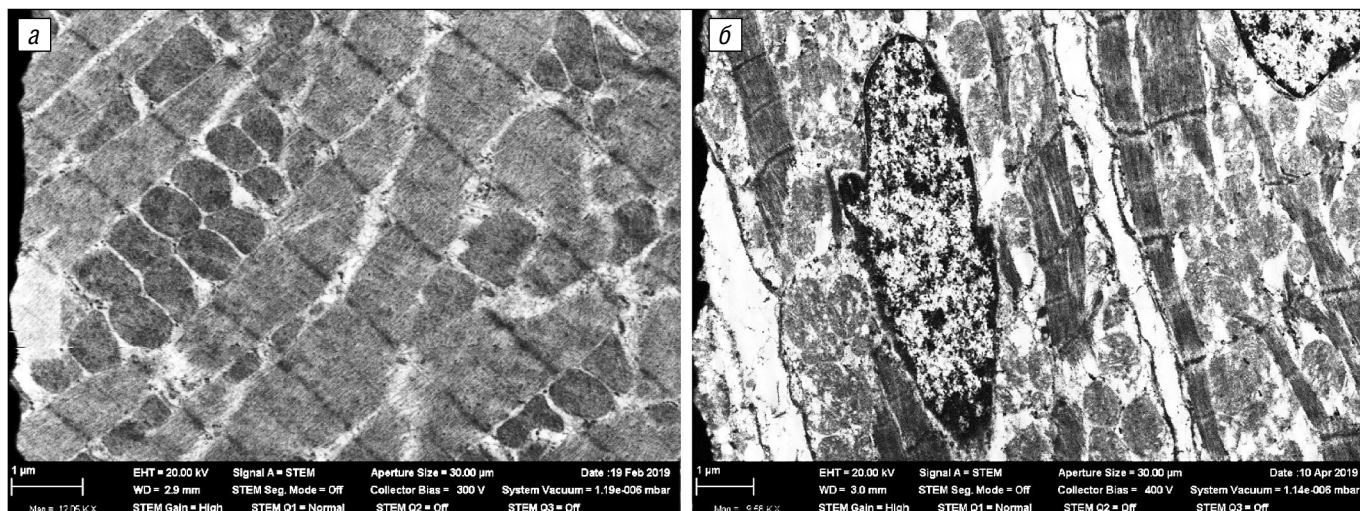


Рис. 4. STEM-изображения кардиомиоцитов: а) контрольная группа, демонстрирующая чётко очерченные Z-полосы, миофибриллы, расположенные правильными рядами, и нормальные митохондрии с плотным матриксом с равномерным заполнением кристами; б) опытная группа, получавшая НЧ PbO, демонстрирующая локальную утрату чёткости очертания Z-полос, лёгкую степень потери миофибрилл при сохранении их нормального расположения, лёгкое набухание митохондрий с просветлением матрикса и потерей плотности заполнения внутреннего пространства.

Fig. 4. Cardiomyocytes STEM images of: а) the control group showing well-defined Z-bands, myofibrils arranged in regular rows, and normal mitochondria with a dense matrix and uniform filling of cristae; б) the experimental group exposed to PbO NPs, demonstrating a local loss of clarity of the Z-bands, a slight degree of loss of myofibrils while maintaining their normal location, slight swelling of mitochondria with clearing of the matrix and loss of filling density of the internal space.

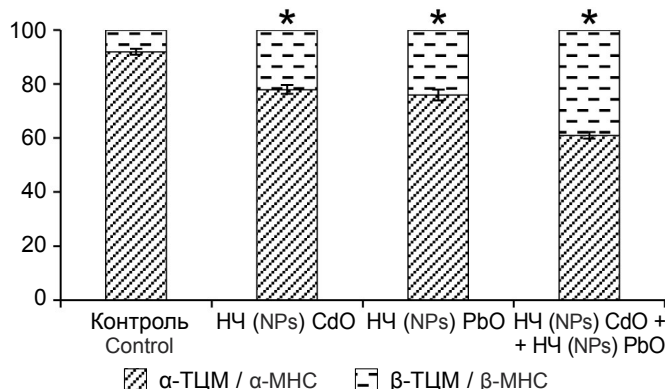


Рис. 5. Изменения миокарда крыс на молекулярном уровне после внутрибрюшинного воздействия суспензиями НЧ PbO и НЧ CdO: экспрессия α - и β -тяжёлых цепей миозина (TCM), %; данные представлены в виде $\bar{X} \pm Sx$.

Fig. 5. Molecular characteristics of the rat myocardium after intraperitoneal exposure to suspended PbO and CdO NPs, $\bar{X} \pm Sx$: expression of α - and β -myosin heavy chains (MHC), %

Электронная микроскопия показала структурные нарушения кардиомиоцитов после воздействия НЧ PbO: результаты свидетельствуют о некоторой потере миофибрилл и разрушении внутреннего пространства митохондрий (рис. 4).

Увеличение медленно циклирующих β -тяжёлых цепей миозина (рис. 5) на молекулярном уровне коррелирует со снижением скорости скольжения тонкого филамента по миозину.

Обсуждение

Гипотоническое действие НЧ при отсутствии значимых изменений частоты сердечных сокращений может свидетельствовать о проникновении частиц нанометрового диапазона и их последующем накоплении в сосудистых стенках, возник-

новении оксидативного стресса и развитии воспаления, что обуславливает прямое и опосредованное повреждение эндотелия. Другой причиной снижения АД является изменение соотношения вазоконстрикторов и вазодилаторов, представленное на рис. 2. Вероятно, в зависимости от химической природы и дозы вводимого вещества и (или) сроков экспозиции артериальное давление может изменяться неоднозначно.

Повышение АД может быть обусловлено избытком эндотелина-1, а снижение — его недостаточным уровнем, что объясняется уменьшением сопротивления сосудов [18]. Также была продемонстрирована способность ацетата свинца при его остром воздействии на крыс увеличивать активность АПФ и индуцировать экспрессию ангиотензина II [19]. Sharifi A.M. и соавт. [20] показали, что на ранних стадиях свинцовой интоксикации повышается сывороточная и локальная активность АПФ. При этом активность АПФ подавляется при хроническом воздействии свинца. В экспериментах, проведенных нашим коллективом, субхроническое воздействие НЧ PbO вызвало снижение активности АПФ. Синтез этого фермента, циркулирующего во внеклеточном пространстве, осуществляется эпителиальными клетками лёгких и сердца с преимущественной локализацией на фибробластах и эндотелиальных клетках сосудов [21]. Наблюдаемые изменения соответствуют второй фазе влияния свинца на АПФ и могут выступать косвенным признаком поражения кардиомиоцитов.

Роль мозгового натрийуретического пептида заключается в вазодилатации [22]. Он продуцируется в основном кардиомиоцитами желудочков сердца [23]. О токсическом эффекте свинца свидетельствует снижение уровня мозгового натрийуретического пептида и толщины кардиомиоцитов (рис. 3, а), что может быть следствием усиления оксидативного стресса [24] и прямого повреждения кардиомиоцитов [25, 26]. Некоторая потеря миофибрилл и разрушение внутреннего пространства митохондрий (см. рис. 4) также негативно повлияли на сократительную функцию кардиомиоцитов и, вероятно, биоэнергетические процессы внутри клетки.

Низкий уровень эндотелина-1 (см. рис. 2, в) и уменьшение толщины эндотелия (см. рис. 3, б) указывают на повреждение эндотелия.

Таблица 3 / Table 3

Оценка (в баллах) кардиотоксических эффектов исследуемых НЧ
Evaluation (in points) of cardiotoxic effects of the nanoparticles under study

Показатели / Indicators		Наночастицы / Nanoparticles		
		PbO	CdO	PbO + CdO
Данные литературы Published data	Данные литературы о кардиотоксичности НЧ в экспериментах <i>in vitro</i> Published data on the cardiotoxicity of NP in <i>in vitro</i> experiments	—	—	—
	Данные литературы о кардиотоксичности НЧ в экспериментах <i>in vivo</i> Published data on cardiotoxicity of nanoparticles <i>in vivo</i>	0.5	—	—
	Эпидемиологические данные о кардиотоксичности НЧ Epidemiological data on cardiotoxicity of nanoparticles	—	—	—
Методы исследования изменений CCC <i>in vivo</i> <i>In vivo</i> methods of testing for cardiovascular conditions	Показатели электрокардиограммы / Electrocardiogram readings	0	0	0
	Показатели АД / Blood pressure readings	2	1	2
Гистологические исследования Histological tests	Гистоморфометрические показатели сердца Histomorphometric parameters of the heart	1	1	1
	Гистоморфометрические показатели аорты Histomorphometric parameters of the aorta	—	—	1
Молекулярные исследования Molecular tests	Характеристика миозина Characteristics of myosin	3	3	3
	Экспрессия генов семейства CYP / CYP gene expression	—	—	—
Биохимические исследования Biochemical tests	Показатели крови / Blood counts	2	1	2
Итого / Total		8.5	6	9

Рост медленно циклирующих β-тяжёлых цепей миозина (см. рис. 5) и снижение скорости скольжения тонкого филамента по миозину в сочетании с ростом временных параметров сокращения изолированных мышечных препаратов [8] можно рассматривать как ранний предвестник развития сердечной недостаточности [27].

В соответствии с балльной системой (см. табл. 1) нами была проведена оценка кардиовазотоксического действия НЧ оксидов свинца и кадмия изолированно и в комбинации. Полученные результаты представлены в табл. 3.

Токсический эффект от воздействия НЧ оксида свинца и кадмия при изолированном и сочетанном действии характеризуется значимыми изменениями ряда показателей практически на всех уровнях организации живого организма. По сумме баллов (см. табл. 2) НЧ оксидов свинца и кадмия обладают выраженным кардиотоксическим эффектом при изолированном и комбинированном действии.

Ограничения исследования. Изучены основные показатели кардиовазотоксического действия наночастиц на организм в токсикологическом эксперименте только на одном виде животных (лабораторная крыса) с использованием одной дозы и одного вида наночастиц (оксиды). Следует с осторожно-

стью экстраполировать на человека данные, полученные в эксперименте на лабораторных крысах, с учётом различий сердечно-сосудистой системы мелких грызунов и крупных млекопитающих.

Заключение

Широкая распространённость металлсодержащих наноматериалов, подтверждение во многих исследованиях их токсического влияния на организм и, в частности, на сердечно-сосудистую систему обуславливают значимость разработанного нами подхода к оценке кардиовазотоксического действия наночастиц в экспериментальном исследовании на лабораторных животных. В соответствии с разработанной системой оценки по результатам токсикологических исследований оксиды свинца и кадмия как при изолированном, так и при комбинированном воздействии имеют выраженные кардиовазотоксические эффекты.

Использование данного подхода позволит детально описывать характер воздействия частиц нанометрового диапазона на сердце и сосуды на всех уровнях для выявления рисков возникновения болезней сердечно-сосудистой системы.

Литература
(п.п. 1–4, 6–13, 15–22, 24–27 см. References)

5. Торопова Я.Г., Осяев Н.Ю., Мухамадияров Р.А. Перфузия изолированного сердца методами Лангендорфа и Нилли: особенности техники и применение в современных исследованиях. *Трансляционная медицина*. 2014; (4): 34–9. <https://elibrary.ru/tsndtr>

14. Урбах В.Ю., Полунина О.С., Севостьянова И.В., Воронина Л.П. *Биометрические методы*. М.: Наука; 1964.

23. Полунина Е.А., Полунина О.С., Севостьянова И.В., Воронина Л.П. «Мультифункциональный» натрийуретический пептид типа С и дискуссионно/перспективное его исследование при хронической сердечной недостаточности. *Астраханский медицинский журнал*. 2017; 12(3): 28–37. <https://elibrary.ru/zvrcgd>

References

1. WHO. Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability; 2019. Available at: <https://who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>

2. WHO. Reveals leading causes of death and disability worldwide: 2000–2019; 2020. Available at: <https://who.int/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019>

3. Global health estimates: Leading causes of death. Cause-specific mortality, 2000–2021. Available at: <https://who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghs-leading-causes-of-death>

4. Ma W., He S., Xu Y., Qi G., Ma H., Bang J.J., et al. Ameliorative effect of sodium selenite on silver nanoparticles-induced myocardiocyte structural alterations in rats. *Int. J. Nanomedicine*. 2020; 15: 8281–92. <https://doi.org/10.2147/IJN.S271457>

5. Toropova Ya.G., Osaev N.Yu., Mukhamadiyarov R.A. Perfusion of the isolated heart by Langendorff and Neely methods: particular techniques and applications in recent scientific research. *Translyatsionnaya meditsina*. 2014; (4): 34–9. <https://elibrary.ru/tsndtr> (in Russian)
6. Han J.C., Taberner A.J., Loissele D.S., Tran K. Cardiac efficiency and Starling's law of the heart. *J. Physiol.* 2022; 600(19): 4265–85. <https://doi.org/10.1113/JP283632>
7. King D.R., Hardin K.M., Hoeker G.S., Poelzing S. Reevaluating methods reporting practices to improve reproducibility: an analysis of methodological rigor for the Langendorff whole heart technique. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2022; 323(3): H363–77. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00164.2022>
8. Klinova S.V., Katsnelson B.A., Minigalieva I.A., Gerzen O.P., Balakin A.A., Lisin R.V., et al. Cardiotropic effects in subchronic intoxication of rats with lead and/or cadmium oxide nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(7): 3466. <https://doi.org/10.3390/ijms22073466>
9. Savi M., Bocchi L., Cacciani F., Vilella R., Buschini A., Perotti A., et al. Cobalt oxide nanoparticles induce oxidative stress and alter electromechanical function in rat ventricular myocytes. *Part Fibre. Toxicol.* 2021; 18(1): 1. <https://doi.org/10.1186/s12989-020-00396-6>
10. Lin B.L., Li A., Mun J.Y., Previs M.J., Previs S.B., Campbell S.G., et al. Skeletal myosin binding protein-C isoforms regulate thin filament activity in a Ca²⁺-dependent manner. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 2604. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21053-1>
11. Nikitina L.V., Kopylova G.V., Shchepkin D.V., Katsnelson L.B. Study of the interaction between rabbit cardiac contractile and regulatory proteins. An in vitro motility assay. *Biochemistry (Mosc.)*. 2008; 73(2): 178–84. <https://doi.org/10.1134/s0006297908020090>
12. Reiser P.J., Kline W.O. Electrophoretic separation and quantitation of cardiac myosin heavy chain isoforms in eight mammalian species. *Am. J. Physiol.* 1998; 274(3): H1048–53. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1998.274.3.H1048>
13. Ansari M.A., Maayah Z.H., Bakheet S.A., El-Kadi A.O., Korashy H.M. The role of aryl hydrocarbon receptor signaling pathway in cardiotoxicity of acute lead intoxication in vivo and in vitro rat model. *Toxicology*. 2013; 306: 40–9. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.01.024>
14. Urbakh V.Yu., Polunina O.S., Sevost'yanova I.V., Voronina L.P. *Biometric Methods [Biometricheskie metody]*. Moscow: Nauka; 1964. (in Russian)
15. Arian M., Soleimani M. Practical calculation of mean, pooled variance, variance, and standard deviation, in meta-analysis studies. *Nurs. Pract. Today*. 2020; 7(1): 5–11. <https://doi.org/10.18502/npt.v7i1.2294>
16. Elgharabawy R.M., Alhawal A.H., Emara A.M., Aldubayan M.A., Ahmed A.S. The impact of chicory (*Cichorium intybus* L.) on hemodynamic functions and oxidative stress in cardiac toxicity induced by lead oxide nanoparticles in male rats. *Biomed. Pharmacother.* 2021; 137: 111324. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111324>
17. Sutunkova M.P., Minigalieva I.A., Klinova S.V., Panov V.G., Gurvich V.B., Privalova L.I., et al. Some data on the comparative and combined toxic activity of nanoparticles containing lead and cadmium with special attention to their vasotoxicity. *Nanotoxicology*. 2021; 15(2): 205–22. <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1845410>
18. Ohno A., Naruse M., Kato S., Hosaka M., Naruse K., Demura H., et al. Endothelin-specific antibodies decrease blood pressure and increase glomerular filtration rate and renal plasma flow in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 1992; 10(8): 781–5.
19. Simões M.R., Ribeiro R.F. Jr., Vescovi M.V., de Jesus H.C., Padilha A.S., Stefanon I., et al. Acute lead exposure increases arterial pressure: role of the renin-angiotensin system. *PLoS One*. 2011; 6(4): e18730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018730>
20. Sharifi A.M., Darabi R., Akbarloo N., Larijani B., Khoshbaten A. Investigation of circulatory and tissue ACE activity during development of lead-induced hypertension. *Toxicol. Lett.* 2004; 153(2): 233–8. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.013>
21. Zhou J., Allen A.M., Yamada H., Sun Y., Mendelsohn F.A.O. Localization and properties of angiotensin converting enzyme and angiotensin receptors in the heart. In: Lindpaintner K., Ganten D., eds. *The Cardiac-Renin Angiotensin System*. Armonk, NY: Futura; 1994: 63–88.
22. Potter L.R., Abbey-Hosch S., Dickey D.M. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr. Rev.* 2006; 27(1): 47–72. <https://doi.org/10.1210/er.2005-0014>
23. Polunina E.A., Polunina O.S., Sevost'yanova I.V., Voronina L.P. «Multifunctional» C-type natriuretic peptide and its discussion/advanced research in chronic heart failure. *Astrakhanskii meditsinskii zhurnal*. 2017; 12(3): 28–37. <https://elibrary.ru/zvrcgd> (in Russian)
24. Fu P.P., Xia Q., Hwang H.M., Ray P.C., Yu H. Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2014; 22(1): 64–75. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.005>
25. Cheng Y., Chen Z., Yang S., Liu T., Yin L., Pu Y., et al. Nanomaterials-induced toxicity on cardiac myocytes and tissues, and emerging toxicity assessment techniques. *Sci. Total Environ.* 2021; 800: 149584. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149584>
26. Panov V., Minigalieva I., Bushueva T., Fröhlich E., Meindl C., Absenger-Novak M., et al. Some peculiarities in the dose dependence of separate and combined in vitro cardiotoxicity effects induced by CdS and PbS nanoparticles with special attention to hormesis manifestations. *Dose Response*. 2020; 18(1): 1559325820914180. <https://doi.org/10.1177/1559325820914180>
27. Scheffler T.L., Leitner M.B., Wright S.A. Technical note: Protocol for electrophoretic separation of bovine myosin heavy chain isoforms and comparison to immunohistochemistry analysis. *J. Anim. Sci.* 2018; 96(10): 4306–12. <https://doi.org/10.1093/jas/sky283>

Сведения об авторах

Клинова Светлана Владиславовна, канд. биол. наук, зав. лаб. промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: klinova.svetlana@gmail.com

Минигалиева Ильзира Амировна, доктор биол. наук, зав. отд. токсикологии и биологической профилактики, ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

Сутункова Марина Петровна, доктор мед. наук, директор ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия; доцент, и. о. зав. каф. гигиены и медицины труда ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: sutunkova@ymrc.ru

Валамина Ирина Евгеньевна, канд. мед. наук, доцент, зав. гистологической Центральной научно-исследовательской лаборатории УГМУ, 620028, Екатеринбург, Россия. E-mail: ivalamina@mail.ru

Герцен Оксана Павловна, канд. биол. наук, науч. сотр. ИИФ УрО РАН, 620078, Екатеринбург, Россия. E-mail: o.p.gerzen@gmail.com

Никитина Лариса Валерьевна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. ИИФ УрО РАН, 620078, Екатеринбург, Россия. E-mail: laranikita63@gmail.com

Рябова Юлия Владимировна, канд. мед. наук, зав. лаб. научных основ биологической профилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Шаххова Дарья Рамильевна, науч. сотр. отд. молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: darya.bo@mail.ru

Шеломенцев Иван Глебович, науч. сотр. отд. молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия. E-mail: shelomencev@ymrc.ru

Мустафина Илина Закарияновна, канд. мед. наук, зав. учебной частью ФГБОУ ДПО РМАНПО, 125993, Москва, Россия

Орлов Михаил Сергеевич, канд. юридич. наук, доцент кафедры организации санитарно-эпидемиологической службы ФГБОУ ДПО РМАНПО, 125993, Москва, Россия

Information about the authors

Svetlana V. Klinova, MD, PhD, DSci., head of the Laboratory of Industrial Toxicology, Yekaterinburg Medical Research Center Prevention and Occupational Health of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-0927-4062> E-mail: klinova.svetlana@gmail.com

Ilzira A. Minigalieva, MD, PhD, DSci., head of the Department of Toxicology and Biological Prophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center Prevention and Occupational Health of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0097-7845> E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

Marina P. Sutunkova, MD, PhD, DSci. (Medicine), Director of the Yekaterinburg Medical Research Center Prevention and Occupational Health of Industrial Workers, 620014, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation; Associate Professor, Acting Head of the Department of Occupational Hygiene and Medicine, Ural State Medical University, Yekaterinburg, 620028, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642> E-mail: sutunkova@ymrc.ru

Irina E. Valamina, MD, PhD, Associate professor, head of the Histology Central Research Laboratory of the Ural State Medical University, Ekaterinburg, 620028, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7387-5287> E-mail: ivalamina@mail.ru

Oksana P. Gertsen, MD, PhD, researcher, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620078, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-3853-1571> E-mail: o.p.gerzen@gmail.com

Larisa V. Nikitina, MD, PhD, DSci. (Biol.), leading researcher, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620078, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7174-2357> E-mail: laranikita63@gmail.com

Yulia V. Ryabova, MD, PhD, head of Laboratory of Scientific Foundations of Biological Prophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center Prevention and Occupational Health of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479> E-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Daria R. Shaikhova, researcher, Department of Molecular Biology and Electron Microscopy, Yekaterinburg Medical Research Center Prevention and Occupational Health of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7029-3406> E-mail: darya.bo@mail.ru

Ivan G. Shelomentsev, researcher, Department of Molecular Biology and Electron Microscopy, Yekaterinburg Medical Research Center Prevention and Occupational Health of Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-8795-8777> E-mail: shelomencev@ymrc.ru

Irina Z. Mustafina, PhD (Med.), head of the study section Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 125445, Moscow, <https://orcid.org/0000-0002-3960-6830>

Mikhail S. Orlov, PhD (Law), associate professor, section Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 125445, Moscow, <https://orcid.org/0009-0001-4695-1755>