

© ЛИСЕЦКАЯ Л.Г., ТИТОВ Е.А., 2020

Лисецкая Л.Г., Титов Е.А.

Содержание меди в органах и тканях белых крыс при пероральном введении нанокompозита меди, инкапсулированного в полимерную матрицу арабиногалактана

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»,
665827, Ангарск

Введение. На основе арабиногалактана создан комплекс гибридных нанобиокompозитов, несущих на себе сбалансированное количество необходимых для организма макро- и микроэлементов. Особенностью действия наночастиц на организм является их способность легко проникать во все органы и ткани.

Цель исследования – изучение влияния арабиногалактана меди на содержание меди в основных тканях и органах крыс.

Материал и методы. Атомно-абсорбционным методом изучали содержание меди в органах и тканях крыс после 10-дневного внутрижелудочного введения раствора арабиногалактана меди в дозе 500 мкг на кг массы тела.

Результаты. Уровень меди выше 2 мкг/г отмечен в шерсти, почках, печени и сердце. Мозг и семенники содержали от 1 до 2 мкг/г меди. В тканях желудка, тонкого и толстого кишечника, тимуса, поджелудочной железы, глаза, селезенки, лёгких и скелетных мышц и в крови – менее 1 мкг/г.

Заключение. Исследование распределения меди в органах крыс после перорального введения нанокompозита оксида меди с арабиногалактаном продемонстрировало, что основными органами-мишенями для накопления элемента являются почки, печень, мозг, желудок. Различный характер накопления меди в тканях организма крыс, которым вводили арабиногалактан меди в виде нанокompозита, может свидетельствовать о выборочной способности тканей и органов к накоплению этого элемента. Для дальнейшей работы по возможному применению препарата в лечебных целях необходимо учитывать особенности биораспределения и биоаккумуляции в различных органах.

К л ю ч е в ы е с л о в а : медь; арабиногалактан; нанокompозит; биораспределение; лабораторные животные

Для цитирования: Лисецкая Л.Г., Титов Е.А. Содержание меди в органах и тканях белых крыс при пероральном введении нанокompозита меди, инкапсулированного в полимерную матрицу арабиногалактана. *Гигиена и санитария*. 2020; 99 (10): 1145-1148. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-10-1145-1148>

Для корреспонденции: Лисецкая Людмила Гавриловна, канд. биол. наук, науч. сотр. ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, Ангарск. E-mail: lis_lu154@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках Государственного задания 6534-2016-0003 «Сравнительная оценка токсического действия нанокompозитов металлов на примере серебра, меди и железа на организм белых крыс».

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, ответственность за целостность всех частей статьи, утверждение окончательного варианта – Лисецкая Л.Г.; концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала – Титов Е.А.

Поступила 10.07.2020

Принята к печати 18.09.2020

Опубликована 30.11.2020

Lyudmila G. Lisetskaya, Evgeny A. Titov

Copper distribution in organs and tissues of albino rats under oral administration of nanocomposite of copper oxide encapsulated in a polymeric matrix of arabinogalactan

East-Siberian Institution of Medical and Ecological, Angarsk, 665827, Russian Federation

Introduction. Based on arabinogalactan, a complex of hybrid nanobiocomposites has been created, which carry a balanced amount of macro- and microelements necessary for the body. A feature of the action of nanoparticles on the body is their ability to easily penetrate all organs and tissues.

The aim of the work is to study the effect of copper arabinogalactan on the content of copper in the main tissues and organs of rats.

Material and methods. The content of copper in organs and tissues of rats after a 10-day intragastric administration of a solution of copper arabinogalactan in a dose of 500 µg per kg of weight was studied by the atomic absorption method.

Results. A high level of copper (above 2 µg/g) was found in wool, kidneys, liver, and heart. The brain and testes contain from 1 to 2 µg/g of copper. In the tissues of the stomach, small and large intestines, thymus, pancreas, blood, eyes, spleen, lungs, and skeletal muscles - less than 1 µg/g.

Conclusion. The study of the distribution of copper in the organs of rats after oral administration of the nanocomposite of copper oxide with arabinogalactan demonstrated the main target organs for the accumulation of the element to be the kidneys, liver, brain, and stomach. The different character of the accumulation of copper in the tissues of the body of the rats received arabinogalactan of copper in the form of a nanocomposite, may indicate the selective ability of tissues and organs to accumulate this element. For further work on the possible use of the drug for medicinal purposes, it is necessary to take into account the peculiarities of biodistribution and bioaccumulation in various organs.

К e y w o r d s : copper; arabinogalactan; nanocomposite; biodistribution; laboratory animal

For citation: Lisetskaya L.G., Titov E.A. The copper content in organs and tissues of albino rats under oral injection of nanocomposite of copper oxide encapsulated in a polymeric matrix of arabinogalactan. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2020; 99 (10): 1145-1148. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-10-1145-1148> (In Russ.)

For correspondence: Lyudmila G. Lisetskaya, MD, Ph.D., researcher of the East-Siberian Institution of Medical and Ecological, Angarsk, 665827, Russian Federation. E-mail: lis_lu154@mail.ru

Information about the authors:

Lisetskaya L.G., <https://orcid.org/0000-0002-0876-2304>; Titov E.A., <https://orcid.org/0000-0002-0665-8060>

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

Acknowledgment. The study was carried out within the framework of state task No 6534-2016-0003 "Comparative assessment of the toxic effect of metal nanocomposites on the example of silver, copper, and iron on the body of white rats".

Contribution: Lisetskaya L.G. – concept and design of the study, collection, and processing of materials, statistical processing, writing the text. Titov E.A. – concept and design of the study, collection, and processing of materials. All coauthors – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Received: July 10, 2020

Accepted: September 18, 2020

Published: November 30, 2020

Введение

В последнее десятилетие становятся крайне востребованными методы неинвазивной диагностики и лечения. Примером таких технологий является создание гибридных нанобиокompозитов на основе оксида меди, обладающих комплексом уникальных физико-химических и биологических свойств. В развивающейся отрасли нанотехнологий наночастицы оксида меди считаются одними из наиболее важных оксидов переходных металлов. Синтез нанобиокompозитов, основанный на принципах «зелёной химии», приобретает всё большее значение благодаря своей простоте, экологичности и экономической эффективности. Многими авторами получены нанокompлексы из природных продуктов с различными биологическими свойствами [1–5]. Примерами могут служить композиты из оксида меди и водного экстракта плодов *Momordica charantia*, обладающие ингибирующей активностью в отношении большинства устойчивых патогенных штаммов человека [1]. Экстракт листьев *Cistus incanus* использован для синтеза наночастиц меди с целью улучшения сердечной функции в условиях окислительного стресса [2]. Оригинальный подход к самоорганизованным гибридным неорганo-органическим наноструктурам, реализованный в Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского, привёл к синтезу нанокompозитов многоцелевого биомедицинского назначения [3–5]. Наиболее перспективным биокompозитом признан природный полисахарид арабиногалактан [6]. На основе арабиногалактана, выделенного из лиственницы сибирской, создан комплекс, несущий на себе максимально сбалансированное количество необходимых для организма макро- и микроэлементов. Такие комплексы хорошо зарекомендовали себя как в качестве биологически активных добавок, так и функциональных продуктов коррекции и модуляции многих жизненно важных процессов в организме человека и животных [7, 8]. На основе наночастиц серебра разработаны повязки, обладающие заживляющим действием при лечении ран, ожогов, экземы [9, 10]. Особенностью действия наночастиц на основе металлов на организм является их способность легко проникать во все органы и ткани [11]. Многими авторами показано, что наномедь повышает антиоксидантную способность крови крыс и способствует расширению сосудов транзиттерами NO и CO [12, 13]. Наночастицы меди, добавленные в рацион крыс, более благотворно влияют на метаболические показатели и подавляют воспалительные процессы более эффективно, чем традиционно применяемый карбонат меди [14, 15]. Рентгеноструктурный анализ костной ткани растущего организма, находящегося на диете, содержащей наночастицы меди, показал увеличение механической выносливости костей без изменений деформации и напряжения по сравнению с медью в традиционной форме карбоната [16]. По данным Е.А. Сизовой и соавт., однократное введение наночастиц меди в концентрации 2 мг/кг через сутки приводило к увеличению концентрации элемента в печени на 293%, после чего система гомеостатического регулирования успешно метаболизировала поступившие наночастицы, уровень кото-

рых в печени через 7 сут снижался до 81% [17]. В то же время отмечены и некоторые негативные последствия. Изучение пероральной токсичности наночастиц оксида меди выявило значительные изменения биохимических и антиоксидантных параметров тканей печени, почек и мозга при высоких дозах в остром и подостром исследовании, что авторы связывают с образованием активных форм кислорода [18]. Попадание в организм животных большого количества наномеди серьёзно влияет на метаболизм лекарств в печени, подавляя экспрессию различных ферментов CYP450, что увеличивает риск лекарственных взаимодействий у животных [19]. В исследовании Л.И. Приваловой и соавт. выявлена системная токсичность наночастиц оксида меди при относительно низком уровне экспозиции, в том числе поражения печени, почек и головного мозга [20]. Наночастицы меди вызывали повреждение эритроцитов, тимуса, селезёнки, печени и почек при дозе более 200 мг кг/сут [21]. Однако, несмотря на широкое распространение и перспективы биомедицинского применения наночастиц меди, вопросы их биобезопасности и фармакокинетики всё ещё неясны [22]. В том числе отсутствуют детальные исследования биораспределения меди и её наночастиц в организме. В связи с этим необходимо комплексное исследование влияния нанокompозитов металлов на их поведение в организме.

Цель исследования – изучение влияния арабиногалактана меди на распределение и накопление меди в основных тканях и органах крыс.

Материал и методы

Эксперименты проведены на половозрелых белых нелинейных крысах-самцах, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животным ежедневно в течение 10 дней внутрижелудочно через зонд вводили водный раствор арабиногалактана, ассоциированного с оксидом меди (Cu_2O) в дозе 500 мкг металла на кг массы тела. Контрольной группе в тех же условиях вводили дистиллированную воду. В каждой группе было по 10 животных. После окончания воздействия животных выводили из эксперимента путём декапитации после лёгкого эфирного наркоза.

На анализ брали кровь из аорты, образцы ткани сердца, печени, почек, лёгких, желудка, поджелудочной железы, селезёнки, семенников, мозга, глаз, тонкого и толстого кишечника, тимуса, бедренной мышцы и шерсти. Органы отделяли от окружающих тканей, полостные органы пищеварения и сердце тщательно очищали от содержимого, промывали в дистиллированной воде и высушивали на фильтровальной бумаге. После взятия навески пробы минерализовали в концентрированной азотной кислоте с использованием микроволновой печи. Для определения концентрации меди использовали атомно-абсорбционный метод. Измерения проводили на приборе AAC-240DUO фирмы «Agilent Technologies» (США).

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Статистическую обработку

Содержание меди (мкг/г сырой массы) в органах белых крыс, Me (Q₂₅–Q₇₅)

Орган (ткань)	Контрольная группа	Опытная группа	Уровень значимости, <i>p</i>
Шерсть	4,54 (3,34–5,42)	4,36 (3,77–4,35)	0,67
Почки	3,04 (2,90–3,47)	4,16 (3,64–4,89)	0,02
Сердце	2,67 (2,12–3,38)	2,23 (1,78–2,65)	0,15
Печень	1,99 (1,70–1,97)	2,50 (2,41–2,90)	0,05
Семенники	1,06 (0,89–1,38)	0,79 (0,64–0,84)	0,006
Мозг	1,01 (0,99–1,21)	1,30 (1,18–1,74)	0,05
Желудок	0,74 (0,68–0,70)	1,31 (1,24–1,45)	0,03
Тонкий кишечник	0,74 (0,63–0,87)	0,82 (0,71–0,90)	0,33
Тимус	0,70 (0,43–0,80)	0,65 (0,28–0,64)	0,72
Поджелудочная железа	0,67 (0,47–0,83)	0,38 (0,22–0,67)	0,14
Глаз	0,67 (0,34–1,01)	0,23 (0,19–0,32)	0,03
Кровь	0,63 (0,62–0,71)	0,68 (0,56–0,79)	0,63
Селезёнка	0,61 (0,56–0,69)	0,81 (0,69–0,98)	0,03
Лёгкие	0,60 (0,58–0,68)	0,68 (0,65–0,95)	0,05
Толстый кишечник	0,55 (0,36–0,58)	0,87 (0,81–0,99)	0,02
Мышцы	0,50 (0,42–0,55)	0,34 (0,32–0,39)	0,02

проводили с использованием непараметрического метода для попарного сравнения Манна–Уитни [23]. Полученные данные представлены в виде медианы, с указанием 25-го и 75-го квартилей (Q₂₅ и Q₇₅) и достигнутого уровня значимости (*p*).

Результаты

Результаты определения содержания меди в изученных органах и тканях представлены в таблице.

Результаты исследования свидетельствуют, что введение арабиногалактана меди вызвало статистически значимое увеличение концентрации элемента в почках, печени, головном мозге, желудке, селезёнке, лёгких и толстом кишечнике.

Исследованные органы и ткани у крыс контрольной группы по содержанию в них меди можно разделить на 3 группы: с высоким уровнем элемента (свыше 2 мкг/г) – шерсть, почки, печень, сердце; средним уровнем (1–2 мкг/г) – мозг, семенники; низким уровнем (менее 1 мкг/г) – желудок, тонкий и толстый кишечник, тимус, поджелудочная железа, кровь, глаз, селезёнка, лёгкие, мышцы.

Обсуждение

Несмотря на многочисленные работы по изучению роли и распределения меди в организме человека и животных, остаётся много неясных моментов в закономерностях биораспределения и метаболизма этого жизненно важного микроэлемента.

Исследования показали, что наибольшая концентрация меди наблюдалась в шерсти животных. Короткий срок воздействия не позволил выявить изменение в содержании, поскольку рост волос за этот промежуток времени был недостаточным.

К категории наиболее богатых медью органов относятся почки, сердце, печень, мозг. Пероральное введение комплекса оксида меди с арабиногалактаном привело к увели-

чению концентрации в почках на 37%, в печени – на 26%, в мозге – на 30%. При этом содержание меди в тканях сердца уменьшилось на 26%.

Наиболее значительное повышение содержания меди отмечено в тканях желудка (на 78%). Этому процессу, вероятно, способствовала наноструктурная форма комплекса с арабиногалактаном, который легко проникает через клеточные мембраны. При этом, возможно, происходит встраивание элемента в структуру ткани.

Наименьшая концентрация меди наблюдалась в кишечнике, тимусе, поджелудочной железе, селезёнке, лёгких, мышцах, глазах. Изначально невысокие уровни концентрации меди в них не изменялись при воздействии достаточно высоких доз данного элемента.

Медь как металл переменной валентности играет исключительную роль во многих метаболических реакциях, в том числе в процессах декарбоксилирования пировиноградной кислоты, повышая эффективность процессов, происходящих в цикле Кребса [24]. В связи с этим высокий уровень концентрации элемента в органах, где происходят интенсивные метаболические процессы (мозг, печень, селезёнка, сердце, лёгкие), легко объясним. Введение арабиногалактана меди вызвало статистически значимое возрастание содержания микроэлемента во всех указанных органах, кроме сердца. Вместо ожидаемого повышения концентрации меди в органах при введении её в составе нанокompозита отмечено статистически значимое снижение концентрации в тканях семенников, глаз, скелетной мускулатуры, а также незначительное уменьшение в сердечной мышце. Возможно, это обусловлено взаимодействием с другими металлами-микроэлементами. Кроме того, известно, что медь имеет аномальный по своей природе метаболизм. Это единственный изученный элемент, который имеет тенденции к распределению в сердце, печени и почках внутриклеточно, а в скелетных мышцах и тимусе – внеклеточно [25]. С аномальным метаболизмом меди связано изменение её концентрации в различных отделах мозга при наследственной форме гепатита [26].

У большинства видов животных медь, поступающая с пищей, усваивается плохо. Для того чтобы абсорбироваться в желудочно-кишечном тракте, медь должна поступать в виде Cu²⁺. Присутствие в рационе веществ с восстановительным потенциалом, таких как аскорбиновая кислота и содержащие фруктозу дисахариды, способствует восстановлению меди до Cu⁺, что существенно снижает степень её усвоения [27]. Арабиногалактан, являясь естественным природным полисахаридом большинства живых организмов, обладает хорошей способностью проникать через биологические мембраны, в том числе в структурах желудочно-кишечного тракта и гематоэнцефалического барьера. При этом мембранные структуры становятся проницаемыми и для одновалентного оксида меди, ассоциированного с арабиногалактаном. Об этом свидетельствуют результаты повышения концентрации элемента в структуре многих тканей организма животных, в том числе в головном мозге.

Заключение

В целом исследование распределения меди в органах крыс после перорального введения нанокompозита оксида меди с арабиногалактаном продемонстрировало, что основными органами-мишенями для накопления элемента являются почки, печень, мозг, желудок. Различный характер накопления меди в тканях организма крыс, которым вводили арабиногалактан меди в виде нанокompозита, может свидетельствовать о выборочной способности тканей и органов к накоплению этого элемента. Для дальнейшей работы по возможному применению препарата в лечебных целях необходимо учитывать особенности биораспределения и биоаккумуляции в различных органах.

Литература

(п.п. 1, 2, 5, 9, 12–14, 16, 18–21, 25–27 см. References)

3. Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Фадеева Т.В., Сухов Б.Г., Трофимов Б.А. Особенности формирования нанобиокompозитов серебра и золота с антимикробной активностью. *Нанотехника*. 2010; (3): 34–42.
4. Трофимов Б.А., Сухов Б.Г. Нанокompозиты медицинского назначения на основе природных полимеров. В кн.: «Наука и нанотехнологии». *Материалы научной сессии президиума СО РАН*. Новосибирск; 2007.
6. Ермакова М.Ф., Чистякова А.К., Шукина Л.В., Пшенничникова Т.А., Медведова Е.Н., Неверова Н.А. и соавт. Влияние арабиногалактана, выделенного из древесины лиственницы сибирской, на хлебопекарные достоинства муки мягкой пшеницы и качество хлеба. *Химия растительного сырья*. 2009; (1): 161–6.
7. Селезнева Н.В., Сергеев А.С., Гребенщиков А.В. Синбиотики – как функциональный компонент питания человека. *Современные наукоёмкие технологии*. 2009; (4): 67–8.
8. Сухов Б.Г., Трофимов Б.А. Наноструктурированные многофункциональные биополимеры и нанокompозиты на их основе для диагностики и терапии. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2012; (5–1): 323–4.
10. Рахметова А.А., Алексеева Т.П., Богословская О.А., Лейпунский И.О., Ольховская И.П., Жигач А.Н. и соавт. Раноактивизирующие свойства наночастиц меди в зависимости от их физико-химических характеристик. *Российские нанотехнологии*. 2010; 5(3–4): 102–7.
11. Глушенко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов. *Химическая физика*. 2002; 21(4): 79–85.
15. Симонов П.В., Резниченко Л.С., Чекман И.С. Влияние наночастиц меди на клиническую картину и морфологические показатели крови при экспериментальной генерализованной инфекции у крыс. *Вестник Витебского государственного университета*. 2015; 14(4): 112–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197083>
17. Сизова Е.А., Мирошников С.А., Лебедев С.В., Глушенко Н.Н. Элементный состав печени при многократном введении наночастиц меди. *Микроэлементы в медицине*. 2011; 12(3–4): 67–9.
22. Богословская О.А., Сизова Е.А., Полякова В.С., Мирошников С.А., Лейпунский И.О., Ольховская И.П. и соавт. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2009; (2): 124–7.
23. Унгуряну Т.Н., Гржибовский А.И. Краткие рекомендации по описанию, статистическому анализу и представлению результатов данных в научных публикациях. *Экология человека*. 2011; (5): 55–60.
24. Родионова Л.В. Физиологическая роль макро- и микроэлементов (обзор литературы). *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2005; (6): 195–9.

References

1. Qamar H., Rehman S., Chauhan D.K., Tiwari A.K., Upmanyu V. Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanomaterial derived from *Momordica charantia*. *Int. J. Nanomedicine*. 2020; 15: 2541–53. <https://doi.org/10.2147/IJN.S240232>
2. Jing C., Yan C.J., Yuan X.T., Zhu L.P. Biosynthesis of copper oxide nanoparticles and their potential synergistic effect on alloxan induced oxidative stress conditions during cardiac injury in Sprague-Dawley rats. *J. Photochem. Photobiol. B*. 2019; 198(9): 111557. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111557>
3. Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Фадеева Т.В., Сухов Б.Г., Трофимов Б.А. Features of formation of silver and gold nanobiocomposites with antimicrobial activity. *Nanotekhnika*. 2010; (3): 34–42. (in Russian)
4. Trofimov B.A., Sukhov B.G. Medical-grade nanocomposites based on natural polymers. In: «Science and Nanotechnology». *Materials of the Scientific Session of the SB RAS Presidium [«Nauka i nanotekhnologii»]*. *Materialy nauchnoy sessii prezidiuma SO RAN*. Novosibirsk; 2007. (in Russian)
5. Shurygina I.A., Sukhov B.G., Fadeeva T.V., Umanets V.A., Shurygin M.G., Ganenko T.V., et al. Bacterial action of Ag(0)-antithrombotic sulfated arabingalactannanocomposite: coevolution of initial nanocomposite and living microbial cell to a novel non-living nanocomposite. *Nanomedicine*. 2011; 7(6): 827–33. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.03.003>
6. Ermakova M.F., Chistyakova A.K., Shchukina L.V., Pshenichnikova T.A., Medvedeva E.N., Neverova N.A., et al. Influence of arabingalactan from larch wood on bread-making properties of wheat flour and bread quality. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2009; (1): 161–6. (in Russian)
7. Selezneva N.V., Sergeev A.S., Grebenshchikov A.V. Synbiotics as a functional component of human nutrition. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2009; (4): 67–8. (in Russian)
8. Sukhov B.G., Trofimov B.A. The nanostructured multipurpose biopolymers and nanobiocomposites on their basis for diagnostics and therapy. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2012; (5–1): 323–4. (in Russian)
9. Wright J.B., Lam K., Buret A.G., Olson M.T., Burrell R.T. Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing. *Wound Repair Regen*. 2002; 10(3): 11–5. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475x.2002.10308.x>
10. Rakhmetova A.A., Alekseeva T.P., Bogoslovskaya O.A., Leypunskiy I.O., Ol'khovskaya I.P., Zhigach A.N., et al. Wound healing properties of copper nanoparticles depending on their physicochemical characteristics. *Rossiyskie nanotekhnologii*. 2010; 5(3–4): 102–7. (in Russian)
11. Glushchenko N.N., Bogoslovskaya O.A., Ol'khovskaya I.P. Physico-chemical laws of the biological action of finely divided metal powders. *Khimicheskaya fizika*. 2002; 21(4): 79–85. (in Russian)
12. Tanaka Y.K., Ogra Y. Evaluation of copper metabolism in neonatal rats by speciation analysis using liquid chromatography hyphenated to ICP mass spectrometry. *Metallomic*. 2019; 11(10): 1679–86. <https://doi.org/10.1039/c9mt00158a>
13. Majewski M., Ognik K., Juszkiewicz J. Copper nanoparticles modify the blood plasma antioxidant status and modulate the vascular mechanisms with nitric oxide and prostanoids involved in Wistar rats. *Pharmacol. Rep*. 2019; 71(3): 509–16. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.02.007>
14. Cholewińska E., Juszkiewicz J., Ognik K. Comparison of the effect of dietary copper nanoparticles and one copper (II) salt on the metabolic and immune status in a rat model. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 2018; 48(7): 111–7. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.03.017>
15. Simonov P.V., Reznichenko L.S., Chekman I.S. Influence of copper nanoparticles on the clinical picture and morphological parameters of blood in experimental generalized infection in rats. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2015; 14(4): 112–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197083> (in Russian)
16. Tomaszewska E., Muszyński S., Ognik K., Dobrowolski P., Kwiecień M., Juszkiewicz J., et al. Comparison of the effect of dietary copper nanoparticles with copper (II) salt on bone geometric and structural parameters as well as material characteristics in a rat model. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 2017; 42(8): 103–10. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.05.002>
17. Sizova E.A., Miroshnikov S.A., Lebedev S.V., Glushchenko N.N. Elemental composition of liver at repeated administration of copper nanoparticles. *Mikroelementy v meditsine*. 2011; 12(3–4): 67–9. (in Russian)
18. Bugata L.S.P., Pitta Venkata P., Gundu A.R., Mohammed Fazlur R., Reddy U.A., Kumar J.M., et al. Acute and subacute oral toxicity of copper oxide nanoparticles in female albino Wistar rats. *J. Appl. Toxicol*. 2019; 39(5): 702–16. <https://doi.org/10.1002/jat.3760>
19. Tang H., Xu M., Shi F., Ye G., Lv C., Luo J., et al. Effects and mechanism of nano-copper exposure on hepatic cytochrome p450 enzymes in rats. *Int. J. Mol. Sci*. 2018; 19(7): 2140. <https://doi.org/10.3390/ijms19072140>
20. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.N., Gurvich V.B., Shur V.Y., Volamina I.E., et al. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors. *Int. J. Mol. Sci*. 2014; 15(7): 12379–406. <https://doi.org/10.3390/ijms150712379>
21. Lee I.C., Ko J.W., Park S.H., Shin N.R., Shin I.S., Moon C., et al. Comparative toxicity and biodistribution assessments in rats following subchronic oral exposure to copper nanoparticles and microparticles. *Part. Fibre Toxicol*. 2016; 13(1): 56. <https://doi.org/10.1186/s12989-016-0169-x>
22. Bogoslovskaya O.A., Sizova E.A., Polyakova V.S., Miroshnikov S.A., Leypunskiy I.O., Ol'khovskaya I.P., et al. Studying of safety of copper nanoparticles introduction with different physical-chemical characteristics into animals' organism. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2009; (2): 124–7. (in Russian)
23. Unguryanu T.N., Grzhibovskiy A.I. Brief recommendations on description, analysis and presentation of data in scientific papers. *Ekologiya cheloveka*. 2011; (5): 55–60. (in Russian)
24. Rodionova L.V. Physiological role of macro- and microelements (literature review). *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2005; (6): 195–9. (in Russian)
25. Leblondel G., Mauras Y., Allain P. Tissue distribution of some elements in rats. *Biol. Trace Elem. Res*. 1986; 10(4): 327–33. <https://doi.org/10.1007/BF02802400>
26. Sugawara N., Ikeda T., Sugawara C., Kohgo Y., Kato J., Takeichi N. Regional distribution of copper, zinc and iron in the brain in Long-Evans Cinnamon (LEC) rats with a new mutation causing hereditary hepatitis. *Brain Res*. 1992; 588(2): 287–90. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91587-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91587-5)
27. Reser S., Ferretti R., Fields M., Smith J.C. Role of dietary fructose in the enhancement of mortality and biochemical changes associated with copper deficiency in rats. *Am. J. Clin. Nutr*. 1983; 38(2): 214–22. <https://doi.org/10.1093/ajcn/38.2.214>