

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Toxicological Review*



Научно-практический журнал  
Издается с июля 1993 года, выходит 1 раз в 2 месяца

№ 6 (141), 2016

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

АКТУАЛЬНЫЕ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАНОТОКСИКОЛОГИИ, ИХ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТИ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ И ПУТИ ЕЁ СНИЖЕНИЯ.....	2
<b>Л.И. Привалова, Б.А. Кацнельсон, В.Б. Гурвич, И.А. Минигалиева, М.П. Сутункова, О.Г. Макеев, И.Е. Валамина, В.Я. Шур, Е.В. Григорьева, Клинова С.В., Е.В. Шишкина</b> О НЕКОТОРЫХ ПРИНЦИПАХ И СПОСОБАХ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА К ВРЕДНЫМ ЭФФЕКТАМ МЕТАЛЛОСодержащих Наночастиц.....	4
<b>М.П. Сутункова</b> ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ И МЕТОДИЧЕСКИЕ СООБРАЖЕНИЯ К ОБОСНОВАНИЮ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЖЕЛЕЗО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ.....	11
<b>И.А. Минигалиева</b> НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛООКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ.....	18
<b>Л.Г. Пьянова, В.А. Лихолобов, А.В. Седанова</b> ЭФФЕКТИВНЫЕ И БЕЗОПАСНЫЕ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ УГЛЕРОДНЫЕ СОРБЕНТЫ МЕДИЦИНСКОГО И ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ НАНОГЛОБУЛЯРНОГО УГЛЕРОДА.....	25
<b>А.В. Глушкова, А.С. Радилов, С.А. Дулов, Н.С. Хлебникова</b> СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ РИСКА И ГИГИЕНИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЯ НАНОМАТЕРИАЛОВ В РОССИИ И ЕВРОСОЮЗЕ (НА ПРИМЕРЕ НОРВЕГИИ).....	31
<b>А.В. Земляной, С.Б. Оникенко, А.С. Радилов, Г.А. Баранов, В.В. Хухарев, С.А. Дулов, М.Б. Варлашова, Н.В. Ерунова</b> ПРИМЕНЕНИЕ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ НАНОМАТЕРИАЛОВ ПРИ ПОРАЖЕНИЯХ ВЫСОКОТОКСИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ.....	36
<b>Л.М. Фатхутдинова, Т.О. Халиуллин, Р.Р. Залялов, Е.Р. Кисин, А.А. Шведова</b> ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ЭКСПОЗИЦИЙ И МЕДИКО- БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК: ОБЗОР СЕРИИ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ..	42
<b>Л.М. Соседова, М.А. Новиков, Е.А. Титов</b> ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АПОПТОЗ-РЕГУЛИРУЮЩИХ БЕЛКОВ В НЕЙРОНАХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОСЕРЕБРА, ИНКАПСУЛИРОВАННОГО В ПОЛИМЕРНУЮ МАТРИЦУ.....	48
<b>Л.П. Точилкина, Н.В. Ходыкина, Л.Ю. Бочарова, М.С. Срослов, В.В. Клаучек, Б.Н. Филатов</b> СУБХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ.....	54
□ Юбилейные даты <b>Березовская Ирина Владимировна</b> .....	62
□ Перечень публикаций, помещенных в журнале «Токсикологический вестник» в 2016 году.....	63

URGENT HYGIENE ASPECTS OF NANO TOXICOLOGY, THEORETICAL BASIS, IDENTIFICATION OF HAZARD TO HUMAN HEALTH AND PATHS OF ITS REDUCTION.....	2
<b>L.I. Privalova, B.A. Katsnelson, V.B. Gurvich, I.A. Minigalieva, M.P. Sutunkova, O. H. Makeyev, I.E. Valamina, V.Y. Shur, E.V. Grigoryeva, S.V. Klinova, E.V. Shishkina</b> SOME PRINCIPLES AND MEANS OF INCREASING THE ORGANISM'S RESISTANCE TO ADVERSE EFFECTS OF METAL- CONTAINING NANOPARTICLES.....	4
<b>M.P. Sutunkova.</b> EXPERIMENTAL DATA AND METHODOLOGICAL CONSIDERATIONS FOR JUSTIFICATION OF IRON OXIDE NANOPARTICLES MAXIMUM ALLOWABLE CONCENTRATION IN OCCUPATIONAL AIR.....	17
<b>I.A. Minigalieva</b> SOME REGULATIES OF METAL OXIDE NPs COMBINED TOXICITY.....	18
<b>L.G. Pyanova, V.A. Likholobov, A.V. Sedanov</b> EFFETIVE AND SAFE MODIFIED CARBON SORBENTS BASED ON NANOGLOBULAR CARBON FOR MEDICAL AND VETERINARY PURPOSES.....	25
<b>A.V. Glushkova, A.S. Radilov, S.A. Dulov, N.S. Khebnikova</b> COMPARATIVE APPROACHES TO RISK ASSESSMENT AND HYGIENE REGULATION OF NANOMATERIALS IN RUSSIA AND IN THE EUROPEAN UNION (ON EXAMPLE OF NORWAY).....	31
<b>A.V. Zemlyanoy, S.B. Onikienko, A.S. Radilov, G.A. Baranov, V.V. Khukharev, S.A. Dulov, M.B. Varlashova, N.V. Erunova</b> THE USE OF CARBONACEOUS NANOMATERIALS IN CASE OF LESIONS CAUSED BY HIGHLY TOXIC CHEMICAL COMPOUNDS.....	36
<b>L.M. Fatkhutdinova, T.O. Khaliullin, R.R. Zalyalov, E.R. Kisin, A.A. Shvedova</b> OCCUPATIONAL EXPOSURE AND MEDICO-BIOLOGICAL EFFECTS OF MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES: OVERVIEW OF AUTHORS' RESEARCHES.....	42
<b>L.M. Sosedova, M.A. Novikov, E.A. Titov</b> FEATURES OF APOPTOSIS-REGULATORY PROTEINS EXPRESSION IN NEURONS OF WHITE RATS AT EXPOSURE TO NANOSILVER ENCAPSULATED IN A POLYMER MATRIX.....	48
<b>L.P. Tochilkina, N.V. Khodykina, L.Yu.Bocharova, M.S. Sroslov, V.V.Klauchek, B.N. Filatov</b> SUB-CHRONIC TOXICITY OF NANOSIZED CERIUM DIOXIDE.....	54
□ Anniversaries <b>Berezovskaya Irina Vladimirovna</b> .....	62
□ List of writings published in «Toxicological Review» in 2016.....	63

# **АКТУАЛЬНЫЕ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАНОТОКСИКОЛОГИИ, ИХ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТИ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ И ПУТИ ЕЁ СНИЖЕНИЯ**

20-21 октября 2016 г. в г. Екатеринбурге была проведена Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути её снижения».

Актуальность публикации материалов обусловлена все возрастающим развитием научных основ и практического применения нанотехнологий, которое привело к созданию десятков искусственных или, так называемых, конструированных (engineered) наноматериалов для широкого спектра использования в науке, технике и медицине. Особую важность имеет также серьезное и все еще недостаточно оцененное гигиеническое значение наноразмерных частиц в составе аэрозолей, загрязняющих воздух помещений при давно существующих технологических процессах и окружающую атмосферу.

Проблемы нанотехнологий и все более расширяющееся применение искусственных наноматериалов настолько актуальны, что еще в 2007 г. Постановлением Правительства РФ была принята Федеральная целевая программа «Развитие инфраструктуры наноиндустрии в Российской Федерации».

Вместе с тем, многие вопросы, такие как гигиеническое нормирование наноаэрозолей, методы идентификации, качественного и количественного мониторинга наночастиц, изучение особенностей вредного действия наночастиц на организм в целях оценки связанных с ними рисков для здоровья, принятия решений по управлению ими и ряд других остаются недостаточно разработанными.

В современных условиях изучение характера и механизмов особой биологической активности (в том числе, токсичности) наночастиц развивается во многих странах мира все нарастающими темпами. Так называемая нанотоксикология выкристаллизовалась в самостоятельную ветвь токсикологической науки. Значение этого направления исследований

связано как с производством и широким применением искусственных наноматериалов в научных исследованиях и разработках, в технике, медицине, особенно в профилактических, диагностических и лечебных целях, так и с присутствием частиц нанометрового диапазона в составе аэрозолей, загрязняющих воздух рабочих помещений при многочисленных металлургических, сварочных и других процессах. Все это создает разнообразие условий вредного воздействия наночастиц на организм человека, риски для здоровья которого требуют для своей оценки углубленных токсикологических исследований.

На конференции были рассмотрены наиболее актуальные вопросы нанотоксикологии применительно к общим закономерностям токсикокинетики и токсикодинамики наночастиц, анализу зависимости механизмов токсичности наночастиц от их размеров и химического состава, оценке эффектов вредного действия комбинации наночастиц и их сочетания с другими вредными факторами производственной среды, принципам обоснования безопасных уровней воздействия наночастиц на организм, развитию подходов к повышению резистентности организма к вредному действию наночастиц, управлению риском для здоровья лиц, контактирующих с наночастицами в процессе производства и использования наноматериалов.

Исходя из представленных докладов и дискуссий, на конференции были отмечены как наиболее важные проблемы, такие как:

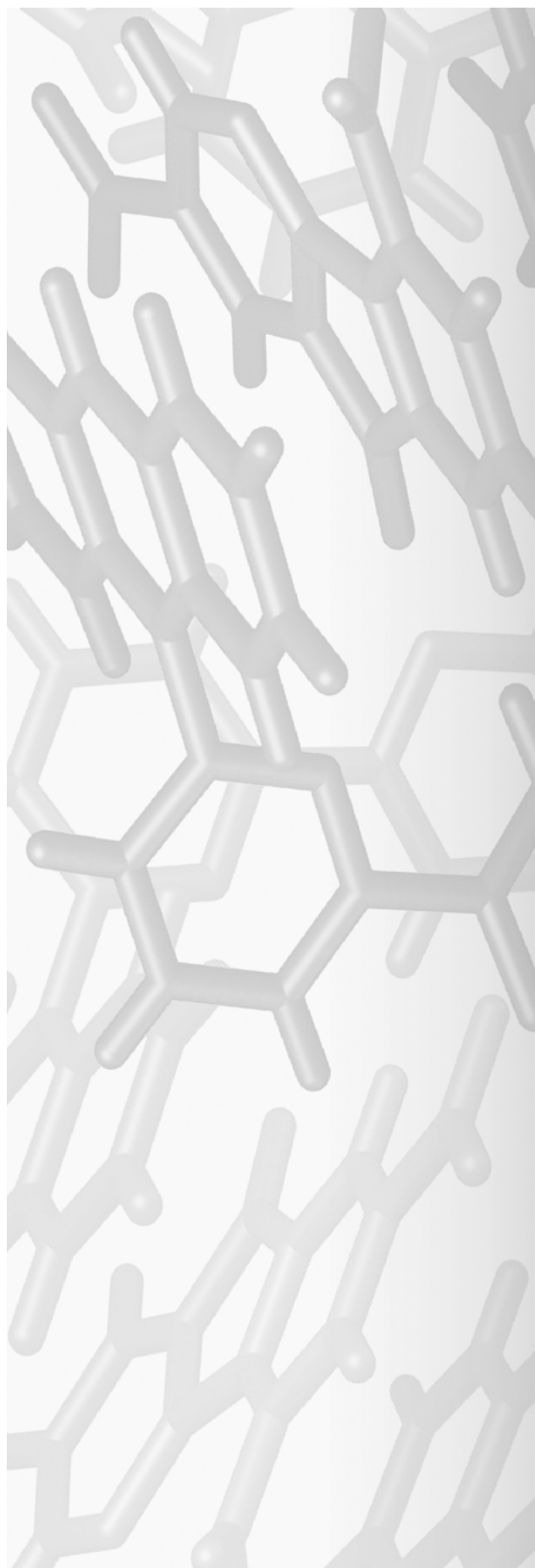
- необходимость проведения контроля и разработки нормативов предельно допустимых концентраций содержания частиц нанодиапазона в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе;
- наличие проблем оценки и управления риском для здоровья лиц, контактирующих с наночастицами в процессе производства и использования наноматериалов;
- связь между некоторыми свойствами (такими, как размер, форма, структу-

ра поверхности, степень агрегации, растворимость) наночастиц, в том числе металлосодержащих, и токсическим ответом в биологических структурах;

- основные закономерности комбинированного действия токсичных металлов и их оксидов в форме наночастиц, которые являются принципиально теми же, что и для действия этих металлов в ионно-молекулярной форме;
- использование так называемых «омик» технологий (протеомики и метаболомики) для оценки токсического действия наночастиц;
- при оценке аэрозолей, содержащих наночастицы, необходимость учитывать их более высокую токсичность, особенно генотоксичность, по сравнению с их микрометровыми аналогами;
- недостаточность гигиенических исследований, посвященных оценке экспозиций к наноматериалам;
- необходимость математического моделирования для понимания процессов токсикокинетики вещества в наноразмерном диапазоне, накопления его в органах и тканях, выведения из организма и оценки его токсического действия;
- необходимость учета результатов экспериментальных исследований при разработке программ мониторинга и профилактики, направленных на снижение или устранение негативных последствий воздействия металлосодержащих наноматериалов и продукции на здоровье работающих и населения.

Статьи, которые представлены в данном и следующем номерах журнала «Токсикологический вестник», посвященные актуальным проблемам нанотоксикологии, были заслушаны и обсуждены в виде докладов на самой конференции. Полагаем, что они вызовут несомненный интерес и будут полезны для решения проблем нанотоксикологии, развития методических подходов и установления безопасных уровней воздействия наноматериалов на работающих и население, повышения резистентности организма к их вредному действию, дальнейшего развития наиболее актуальных задач гигиенической нанотоксикологии, оценки и управления риском для здоровья, связанным с влиянием наноматериалов.

***РЕДКОЛЛЕГИЯ***



УДК 615.9

# О НЕКОТОРЫХ ПРИНЦИПАХ И СПОСОБАХ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА К ВРЕДНЫМ ЭФФЕКТАМ МЕТАЛЛОСодЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦ

Л.И. Привалова<sup>1</sup>, Б.А. Кацнельсон<sup>1</sup>,  
В.Б. Гурвич<sup>1</sup>, И.А. Минигалиева<sup>1</sup>,  
М.П. Сутункова<sup>1</sup>, О.Г. Макеев<sup>2</sup>,  
И.Е. Валамина<sup>2</sup>, В.Я. Шур<sup>3</sup>,  
Е.В. Григорьева<sup>1</sup>, С.В. Клинова<sup>1</sup>,  
Е.В. Шишкина<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФБУН «Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация;

<sup>2</sup> Центральная научно-исследовательская лаборатория Уральского государственного медицинского университета, 620109, г. Екатеринбург, Российская Федерация;

<sup>3</sup> Уральский центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии», ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620000, г. Екатеринбург, Российская Федерация.

Особо высокие риски для здоровья, связанные с воздействиями металлических и металло-оксидных наночастиц (Me-НЧ), а также их присутствие в производственной среде не только наноиндустрии, но и при некоторых давно существующих технологиях, вызывают необходимость поддержания как можно более низких уровней соответствующих вредных экспозиций, а также поиск путей повышения устойчивости организма к ним. В статье кратко обсуждены теоретические предпосылки такой «биозащиты». Анализ наиболее существенных результатов экспериментов с различными Me-НЧ показывает, что на фоне действия правильно подобранных комбинаций некоторых биологически активных агентов, используемых в безвредных дозах, удаётся заметно ослабить интегральную и специфическую токсичность и даже генотоксичность металлосодержащих наночастиц.

**Ключевые слова:** наночастицы, токсичность, генотоксичность, биопротекция.

**Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna)**, доктор медицинских наук, профессор, зав. лабораторией научных основ биологической профилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, privaloval@yahoо.com;

**Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich)**, доктор медицинских наук, профессор, и.о. зав. отделом токсикологии и биопротекции ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, bkaznelson@etel.ru;

**Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich)**, доктор медицинских наук, директор ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, gurvich@umtc.ru;

**Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna)**, кандидат биологических наук, зав. лабораторией промышленной токсикологии ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, ilzira-minigalieva@yandex.ru;

**Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna)**, кандидат медицинских наук, зав. лабораторией промышленной токсикологии ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, marinasutunkova@yandex.ru;

**Макеев Олег Германович (Makeyev Oleg Hermanovich)**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клеточной и генной терапии Института медицинских клеточных технологий, ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет», 620109, г. Екатеринбург, Российская Федерация, ommt305@mail.ru;

**Валамина Ирина Евгеньевна (Valamina Irina Evgenyevna)**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет», 620109, г. Екатеринбург, Российская Федерация, ivalamina@mail.ru;

**Шур Владимир Яковлевич (Shur Vladimir Yakovlevich)**, доктор физико-математических наук, профессор, директор Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии», Институт естественных наук, ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», 620026, г. Екатеринбург, Российская Федерация, vladimir.shur@urfu.ru;

**Григорьева Екатерина Витальевна (Grigoryeva Ekaterina Vitalyevna)**, мл. научный сотрудник лаборатории научных основ биологической профилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, grigorieva@umtc.ru;

**Клинова Светлана Владиславовна (Klinova Svetlana Vladislavovna)**, мл. научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, klinova@umtc.ru;

**Шишкина Екатерина Владимировна (Shishkina Ekaterina Vladimirovna)**, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии», Институт естественных наук, ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», 620026, г. Екатеринбург, Российская Федерация, ekaterina.shishkina@labfer.usu.ru

**Введение.** Снижение экспозиции человека к неблагоприятным факторам производственной среды и среды обитания до предположительно безопасных уровней справедливо рассматривается как генеральное направление профилактики вредных для здоровья эффектов этой экспозиции. Как бы ни назывались такие целевые уровни в разных странах и каков бы ни был их правовой статус, их установление основано на открыто декларируемой или отрицаемой, но по умолчанию признаваемой парадигме «пороговости», которая подразумевает возможность такой силы (дозы) вредного фактора, при которой выработанные эволюцией защитно-компенсаторные механизмы позволяют организму существовать и развиваться без существенных отклонений от биологической нормы. Однако особо высокая токсичность и опасность металлических наночастиц<sup>1</sup> (Me-НЧ) предопределяет столь низкие уровни подобных безопасных экспозиций, что их стабильное поддержание нередко оказывается мало реальным технически и экономически [1, 2].

Поэтому в своих исследованиях (в которых, наряду с автором статьи, наибольшую роль сыграли Б.А. Кацнельсон, М.П. Сутункова, И.А. Минигалиева, Т.Д. Дегтярёва, Н.В. Логинова, Е.В. Григорьева, и др.) мы поставили целью обосновать и проверить возможность такого воздействия на баланс между экспозицией к Me-НЧ и организмом, которое (будучи само безвредным) повысило бы устойчивость последнего и тем снизило бы вероятность развития вредных эффектов экспозиции [3]. Подчеркнём, однако, что этот подход, обозначаемый нами как «биологическая профилактика» (БП), никогда не предлагался в качестве альтернативы мер управления риском, направленных на максимально возможное снижение вредной экспозиции, а лишь как эффективное и без особых затрат осуществимое дополнение к ним.

Идея подобной БП, направленной против действия Me-НЧ, возникла на базе многолетнего опыта аналогичного подхода к профилактике хронических интоксикаций и других заболеваний, вызываемых химическими веществами в ионно-молекулярном или микродисперсном состоянии [4, 5, 6]. Обобщение этого опыта позволило выработать определённые теоретические принципы, которые неоднократно обсуждались подробно в приведенных публикациях, что позволяет здесь ограничиться кратким изложением их.

*Общие принципы биопрофилактики интоксикаций.* Для достижения вышеназванной цели БП может использовать такие факторы (биопро-

текторы), которые первично направлены либо на токсикокинетические эффекты, то есть на повышение эффективности естественных механизмов детоксицирующей биотрансформации и/или элиминации яда; либо на токсикодинамику яда (на механизмы токсичности от молекулярного до организменного уровня, на повышение функциональных резервов на разных уровнях биологической организации, на усиление эффективности репаративных и компенсаторных реакций организма, на использование физиологических и биохимических антагонизмов). Однако эти два способа биопротекторного действия чаще всего взаимосвязаны и взаимозависимы.

Как первично токсикокинетические, так и первично токсикодинамические биопротекторы могут быть либо специфичными для защиты преимущественно от какого-то одного или группы сходно действующих токсикантов, либо преимущественно неспецифичными, если их эффекты реализуются на организменном уровне через такие состояния как ОАС по Селье или СНПС по Н.В. Лазареву, хотя для многих биопротекторов обе направленности действия сочетаются, причём соотношение между ними зависит от того, против какой конкретной интоксикации они предлагаются. Состояние повышенной резистентности организма к действию токсиканта может сохраняться и более или менее длительное время после того, как назначение биопротекторов прекращено, что оправдывает их применение не непрерывно, а курсами.

Биопротекторы, у которых хотя бы часть точек приложения и механизмов защитного действия не идентична, наиболее эффективны при комбинированном назначении в составе так называемых «биопрофилактических комплексов» (БПК). Изолированно или в составе таких БПК мы в большом числе экспериментов с успехом испытывали: некоторые аминокислоты (глутамат, глицин, метионин, цистеин); многие витамины и эссенциальные микроэлементы; препараты рыбьего жира с высоким содержанием жирных кислот класса омега-3; пектиновые энтеросорбенты.

*Выбор и испытание эффективности биопротекторов против действия Me-НЧ.*

Опираясь на вышеизложенные принципы, мы предложили и испытали к настоящему времени композиции БПК для повышения устойчивости организма к действию Ag-НЧ при субхроническом внутрибрюшинном введении, CuO-НЧ, комбинации NiO-НЧ+Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-НЧ при таком же и при однократном интратрахеальном введении

<sup>1</sup> Этот термин применяется здесь собирательно по отношению к нано-частицам (НЧ) как элементарных металлов, так и их оксидов не только потому, что механизмы их токсичности во многом совпадают, но и принимая во внимание, что «на большинстве металлических НЧ, за исключением НЧ благородных металлов, в условиях среды быстро образуется тонкий поверхностный слой оксидов» [1]

и комбинации  $PbO-NЧ+CuO-NЧ+ZnO-NЧ$  на обеих экспериментальных моделях [7, 8, 9, 10]. Различаясь в некоторых важных деталях, состав соответствующих БПК, в то же время, имел много общих компонентов, которые мы намерены использовать и в дальнейшем. Этими компонентами выбора являются:

(1) Глутаминовая кислота (в форме глутамата натрия) как эффективный стабилизатор клеточных мембран, действующий через интенсификацию синтеза АТФ в условиях повреждения этих мембран различными цитотоксичными частицами (например) и, вместе с тем, как один из прекурсоров глутатиона, который служит мощным протектором клетки в условиях оксидативного стресса, то есть одного из ключевых первичных механизмов цитотоксичности и генотоксичности практически всех  $Me-NЧ$  [11, 12].

Вдобавок к этим не почти универсальным механизмам защитного действия глутамата, он может служить и более специфическим биопротектором от нейротоксического действия  $Mn_3O_4-NЧ$ ,  $PbO-NЧ$  и некоторых других  $Me-NЧ$ , учитывая значительную роль этой аминокислоты в качестве внутримозгового медиатора сигналов возбуждения, участвующего в реализации многих процессов нормального функционирования. Известно, в частности, что марганец тормозит экспрессию и функцию главных белков-транспортеров глутамата в астроцитах, и что свинец препятствует релизу глутамата в гиппокампе [13, 14].

(2) Два других прекурсора глутатиона: глицин и цистеин в форме метаболитически высоко активного и био-доступного производного N-ацетилцистеина (широко известного как препарат АЦЦ), принимая во внимание как теоретические соображения относительно роли глутатиона в антиоксидантной и противорадикальной защите, приведенные выше, так и некоторые экспериментальные данные прямо указывающие на то, что его дефицит в организме усиливает токсичность некоторых металлов – например, марганца [15].

(3) Некоторые другие факторы антиоксидантной системы организма (витамины А, С, Е и селен).

(4) Полиненасыщенные жирные кислоты класса омега-3, исходя из того, что их внутриклеточные производные – эйкозаноиды – известны как активаторы ДНК-репликации и тем самым способствуют репарации ДНК, повреждаемой прямым действием генотоксичного металла или

действием свободных кислородных радикалов, генерируемых на поверхности  $Me-NЧ$ .

(5) Препараты йода, принимая во внимание хорошо известные нарушения функции щитовидной железы при свинцовой, марганцевой и некоторых других металлоинтоксикациях.

(6) Микроэлементы, известные как физиологические или как токсикологические антагонисты конкретного металла, входящего в состав действующих  $Me-NЧ$ .

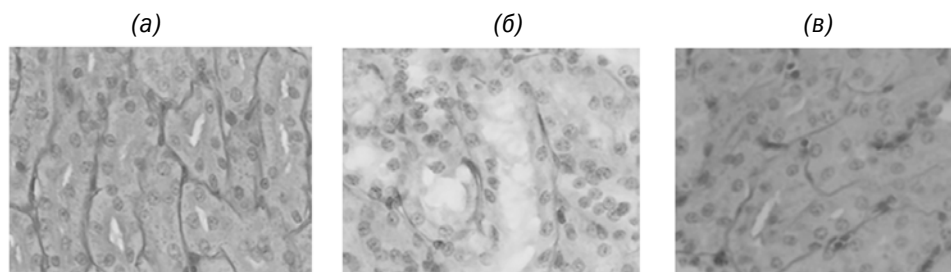
(7) Пектиновые энтеросорбенты, препятствующие вторичной реабсорбции токсичного металла в кровь из кишечника, в который они попадают с желчью (что особенно важно при действии тех металлов, для которых гепато-билиарный путь экскреции превалирует над почечным – например, марганца и меди), как и первичной абсорбции металла, освобождающегося при частичном растворении  $Me-NЧ$  в ЖКТ, куда  $NЧ$  они переносятся в процессе самоочищения дыхательных путей.

*Примеры эффективности испытанных БПК*

Во всех проведенных нами экспериментах, ссылки на которые даны выше, мы нашли, что лёгочная и системно-организменная токсичность, включая генотоксичность исследованных  $Me-NЧ$ , были существенно ослаблены на фоне или после проведения перорального курса биологической профилактики.

Это утверждение основано на большом числе функциональных, биохимических и морфометрических показателей токсичности, рассматриваемых детально в соответствующих публикациях, но в данной обобщающей статье мы ограничимся несколькими иллюстрирующими его примерами.

Так, все изученные нами  $Me-NЧ$  оказались нефротоксичными, оказывая наиболее выраженное повреждающее действие на эпителий проксимальных извитых канальцев почки, клетки которого на большем или меньшем пространстве теряют щёточную каёмку или полностью исчезают. На фоне приёма БПК это повреждение оказывается существенно ослабленным, что де-



**Рис. 1.** Почки: (а) контрольной крысы (проксимальные извитые канальцы с интактной щёточной каёмкой).

(б) крысы после субхронического воздействия  $NiO-NЧ+Mn_3O_4-NЧ$  (выраженные дегенеративные и некробиотические изменения канальцевого эпителия вплоть до десквамации и частичное разрушение щёточной каёмки сохранившихся клеток.

(в) крысы после такого же воздействия на фоне приёма БПК (указанные признаки нефротоксичности существенно ослаблены). Окраска ШИК, увеличение  $\times 400$ .

монстрируется примерами, данными на рисунке 1 и в таблице 1.

Другим твёрдо установленным эффектом практически всех Me-НЧ является выраженное накопление их в органах, богатых клетками РЭС и при том интенсивно перфузируемых кровью (прежде всего, в печени и селезёнке) с развитием

патологических изменений в последних. Пример ослабления этих изменений на фоне приёма БПК показан в таблице 2.

Более специфичный эффект субхронической нейротоксичности наночастиц  $Mn_3O_4$  (действующих изолированно или в комбинации с NiO-НЧ), а также наночастиц CuO также заметно ослабля-

Таблица 1

**Морфометрические показатели повреждения канальцевого эпителия почек при субхронической интоксикации металлическими наночастицами на фоне действия БПК или без него ( $X \pm s.e.$ )**

Крысы, получавшие в/б	Потеря щёточной каёмки (% периметра)	Потеря клеток (% периметра)
NiO-НЧ+ $Mn_3O_4$ -НЧ		
Воду (контроль)	5,44 ±0,90	0,00±0,00
Me-НЧ	12,33±2,30*	2,43±1,00*
Me-НЧ на фоне перорального приёма БПК <sup>2</sup>	7,08±1,70	0,00±0,00+
CuO-НЧ		
Воду (контроль)	5,39±0,42	0,33±0,13
Me-НЧ	8,36±0,76*	1,16±0,38*
Me-НЧ на фоне перорального приёма БПК <sup>3</sup>	5,98±0,46+	0,98±0,35

Примечание: статистически значимое ( $p < 0,05$  по t-Стьюдента) отличие: \* – от контрольной группы; + – от группы, получавшей только Me-НЧ.

Таблица 2

**Морфометрические показатели изменения гистоструктуры печени и селезёнки при субхронической интоксикации серебряными наночастицами на фоне действия БПК или без него ( $X \pm s.e.$ )**

Показатель	Крысы, получавшие в/б		
	Воду (контроль)	Ag-НЧ	Ag-НЧ на фоне перорального приёма БПК <sup>4</sup>
Печень			
Безъядерные гепатоциты на 100 гепатоцитов	17,6±0,6	18,5±1,3	13,0±1,0 **
Клетки Купфера per100 клеток печени	16,5±0,5	25,0±0,8 *	20,0±0,6 **
Средневзвешенный балл нагруженности клеток Купфера частицами #	0	0,91±0,7	0,51±0,09 +
Селезёнка			
Планиметрическое отношение белой пульпы к красной пульпе	0,59±0,036	0,37±0,035 *	0,59±0,086 +

Примечание: статистически значимое ( $p < 0,05$  по t-Стьюдента) отличие: \* – от контрольной группы; + – от группы, получавшей только Ag-НЧ; # – при полуколичественной оценке в баллах от 0 до 4.

<sup>2</sup> См. предыдущую сноску

<sup>3</sup> Состав БПК приведен в описании патента Российской Федерации № 2560682 и в статье [8].

<sup>4</sup> Состав БПК приведен в описании патента Российской Федерации № 2530639 и в статьях [7,16].

Таблица 3

**Некоторые морфометрические показатели состояния головного мозга крысы при субхронической комбинированной интоксикации наночастицами  $Mn_3O_4+NiO$  на фоне действия БПК или без него ( $\bar{X}\pm s.e.$ )**

Нервные клетки (%%)	Крысы, получавшие внутрибрюшинно		
	Воду (контроль)	Me-НЧ	Me-НЧ на фоне перорального приёма БПК
Хвостатое ядро			
Без ядрышка	30,50±2,77	60,30±2,26*	37,15±2,89+
С отчётливым центрально расположенным ядрышком	25,12±1,16	12,35±0,95*	23,28±1,09+
Гиппокамп (CA 1)			
Без ядрышка	30,50±2,30	70,40±3,75*	41,30±2,14*+
С отчётливым центрально расположенным ядрышком	46,4±2,92	11,0±1,13*	30,5±1,96*+

Примечание: статистически значимое ( $p < 0,05$  по t-Стьюдента) отличие: \* - от контрольной группы; + - от группы, получавшей только Me-НЧ.

Таблица 4

**Содержание меди (мкг на 1 г сухой ткани) в органах крысы при субхронической интоксикации наночастицами  $CuO$  на фоне действия БПК или без него ( $\bar{X}\pm s.e.$ )**

Крысы, получавшие в/б:	Почки	Печень	Селезёнка	Головной мозг
Воду (контроль)	42,4±2,9	12,2±2,4	22,5±2,1	18,9±0,7
$CuO$ -НЧ	62,5±7,1*	28,8±6,3*	24,2±1,5	21,5±1,7
$CuO$ -НЧ на фоне перорального приёма БПК	59,4±10,0	22,1±3,5*	18,0±2,5+	18,8±1,4
Воду на фоне перорального приёма БПК	50,4±5,6	10,6±0,3	25,3±2,2	20,8±1,5

Примечание: статистически значимое ( $p < 0,05$  по t-Стьюдента) отличие: \* - от контрольной группы; + - от группы, получавшей только  $CuO$ -НЧ.

ется на фоне действия соответствующих БПК, как это видно из результатов, приведенных на рисунке 2 и в таблице 3 [8,9].

Ещё один металлоспецифичный эффект наблюдался при субхронической интоксикации наночастицами оксида свинца и особенно комбинации  $PbO$ -НЧ+ $CuO$ -НЧ+ $ZnO$ -НЧ по действию на порфириновый обмен и красную кровь. Так, число ретикулоцитов, равное в контрольной группе  $10,2\pm 1,4\%$ , при действии этой комбинации увеличилось до  $29,7\pm 3,2\%$  ( $p < 0,05$ ), а при таком же действии на фоне БПК<sup>5</sup> – только до  $18,0\pm 1,6\%$ , ( $p < 0,05$ ). Соответствующие среднegrupповые показатели концентрации дельта-АЛК в моче равнялись  $11,1\pm 4,3$ ;  $15,2\pm 2,5$  ( $p < 0,05$ ) и  $8,1\pm 2,7$  мг/л.

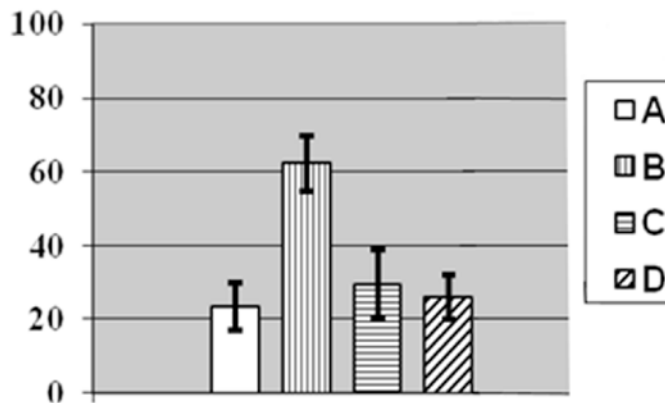
В вышеприведенных публикациях по результатам каждого из экспериментов можно найти

немало примеров ослабления под влиянием соответствующих ПДК нанометаллоинтоксикаций также по большому числу не специфических (интегральных) показателей. Так, например, при комбинированном воздействии  $Mn_3O_4$ -НЧ+ $NiO$ -НЧ статистически значимое отклонение в неблагоприятную сторону от контроля дали 25 из 50 использованных функциональных и биохимических характеристик состояния организма, а при таком же воздействии на фоне приёма БПК – только один из них [9]. Важно отметить, что ни одного такого отклонения не было при действии только БПК.

Хотя даже существенное ослабление показателей токсичности металлических НЧ на органном уровне далеко не всегда было связано со снижением их накопления в данном органе (что свиде-

<sup>5</sup> Состав этого БПК, отличающийся от состава ранее упомянутых трёх, но также обоснованный вышеизложенными теоретическими соображениями, служит предметом патентной заявки.





**Рис. 2.** Число нервных клеток, потерявших ядрышко на 100 нейронов Гольджи в хвостатом ядре головного мозга у крыс после субхронического в/б введения (А) воды (контроль); (В) водной суспензии  $\text{CuO}$ -НЧ; (С) той же суспензии на фоне перорального приёма, (D) воды без НЧ на фоне перорального приёма, (Средние значения с 95 % ДИ). Различия между (В) и (А), а также между (С) и (В) статистически значимы ( $p < 0,05$  по t-Стьюдента).

тельствует о вероятном преобладании токсикодинамических механизмов защитного действия биопротекторов), однако, важно отметить, что и благоприятный токсикокинетический эффект в ряде случаев имел место, примером чего могут служить данные, приведенный в таблице 4 [8].

В двух экспериментах мы нашли, что те же самые БПК, которые были эффективными при субхронической комбинированной экспозиции к  $\text{Me}$ -НЧ (с исключением из их состава только энтеросорбента), оказались эффективными и при 4-недельной премедикации ими крыс перед интратрахеальным введением тех же комбинаций  $\text{Me}$ -НЧ. Под влиянием этой премедикации были заметно ослаблены присущие реакции на действие любых цитотоксичных частиц сдвиги цитологических и биохимических характеристик жидкости, полученной через 24 часа при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ) [17].

Наконец, важнейшим защитным эффектом всех БПК, испытанных нами при субхроническом действии различных  $\text{Me}$ -НЧ, является ослабление генотоксичности «ин vivo», оцениваемой с помощью ПДАФ-теста по коэффициенту фрагментации геномной ДНК. В качестве иллюстрации можно привести показатели, полученные при действии НЧ серебра [18]: в печени контрольных крыс  $0,40 \pm 0,001$ , при действии  $\text{Ag}$ -НЧ –  $0,46 \pm 0,002^*$ , при действии тех же НЧ на фоне приёма БПК – только  $0,41 \pm 0,011^+$ ; в костном мозге – соответственно,  $0,39 \pm 0,003$ ;  $0,46 \pm 0,032^*$ ;  $0,37 \pm 0,003^+*$ ; в селезёнке –  $0,38 \pm 0,002$ ;  $0,46 \pm 0,001^*$ ;  $0,42 \pm 0,003^+*$ ; в почках –  $0,39 \pm 0,003$ ;  $0,42 \pm 0,008^*$ ;  $0,40 \pm 0,006^+*$ ; в ядродержащих клетках крови –  $0,38 \pm 0,001$ ;  $0,41 \pm 0,012^*$ ;  $0,39 \pm 0,007$  (звёздочкой отмечена статистическая значимость отличия от контрольного показателя, а крестиком – от показателя группы, получавшей  $\text{Ag}$ -НЧ без БПК).

**Заключение.** С помощью биопротекторных комплексов теоретически обоснованного состава удаётся существенно ослабить локальное и органно-системное вредное действие металлических наночастиц, включая их генотоксичность, в токсикологических экспериментах, а ранее накопленный опыт внедрения биопрофилактики различных интоксикаций в практику управления профессиональными и экологическими обусловленными химическими рисками для здоровья населения даёт основания рассчитывать на то, что в эту систему могут быть включены и риски, связанные с производством и применением металлических наночастиц, а также с их неизбежным образованием при многих металлургических, сварочных и некоторых других технологиях.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Качнельсон Б.А., Привалова Л.И., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Минигалиева И.А., Логинова Н.В. и др. Основные результаты токсикологических экспериментов «ин vivo» с некоторыми металлическими и металло-оксидными наночастицами. Токсикологический Вестник. 2015; 3: 26-39.
2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Kireyeva E.P. et al. An approach to tentative reference levels setting for nanoparticles in the workroom air based on comparing their toxicity with that of their micrometric counterparts: A case study of iron oxide  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . J. ISRN Nanotechnol. 2012; 2012. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/143613/>
3. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigaliev I.A., Gurvich V.B., Shur V.Y. et al. Is it possible to enhance the organism's resistance to toxic effects of metallic nanoparticles? J. Toxicol. 2015; 337: 79-82.
4. Katsnelson B.A., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Privalova L.I., Soloboyeva J.I. «Biological prophylaxis» – One of the ways to proceed from the analytical environmental epidemiology to the population health protection. Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med. 2008; 14: 41-2.
5. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Soloboyeva J.I. Biological Prophylaxis of Adverse Health Effects Caused by Environmental and Occupational Impacts – Theoretical Premises, Experimental and Field Testing, Practical Realization. Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med. 2009; 14 (1-2): 35-57.
6. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A. et al. Enhancing Population's Resistance to Toxic Exposures as an Auxiliary Tool of Decreasing Environmental and Occupational Health Risks (a Self-Overview). J. of Environ. Protect. 2014; 5: 1435-49.
7. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin Y.B. et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. Int. J. Mol. Sci. 2013; 14: 2449-83.
8. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E. et al. Subchronic Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles and Its Attenuation with the Help of a Combination of Bioprotectors. Int. J. Mol. Sci. 2014; 15: 12379-406
9. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya. et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. Int. J. of Mol. Sci. 2015; 16 (9): 22555-83.
10. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigaliev I.A., Panov V.G., Varaksin A.N. et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. J. Food Chem. Toxicol. 2015; 86: 351-64.

11. Morosova K.I., Katsnelson B.A., Rotenberg Yu.S., Belobragina G.V. A further experimental study of the antisilicotic effect of glutamate. *Br. J. Ind. Med.* 1984; 41(4): 518-25.  
 12. Fröhlich E. Cellular targets and mechanisms in the cytotoxic action of non-biodegradable engineered nanoparticles. *J. Curr. Drug Metab.* 2013; 14: 976-88.  
 13. Karki P., Lee E., Aschner M. Manganese Neurotoxicity: a Focus on Glutamate Transporters. *Ann. Occup. Environ. Med.*

2013; 25 (1): 4.  
 14. White L.D., Cory-Slechta D.A., Gilbert M.E., Tiffany-Castiglioni E., Zawia N.H., Virgolini M. et al. New and evolving concepts of the neurotoxicology of lead. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007; 225: 1-27.  
 15. Desole M.S., Miele M., Esposito G., Migheli R., Fresu L., De Natale G. et al. Dopaminergic system activity and cellular defense mechanisms in the striatum and striatal synaptosomes of the rat subchronically exposed to manganese.

*Arch. Toxicol.* 1994; 68: 566-70.  
 16. Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А., Логинова Н.В., Гурвич В.Б., Шур В.Я., Makeev O.G. и др. Пути повышения устойчивости организма к вредному действию наноматериалов на примере наносеребра и наноксида меди. *Гигиена и санитария.* 2015; 94 (2): 31-5.  
 17. Кацнельсон Б.А., Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Шур В.Я. и др. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное

интратрахеальное введения наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и ее ослабление биопротекторной премедикацией. *Токсикологический вестник.* 2014; 6: 8-14.  
 18. Кацнельсон Б.А., Makeev O.G., Привалова Л.И., Сутункова М.П., Киреева Е.П., Минигалиева И.А. и др. О сравнительной генотоксичности наносеребра и нанозолота и возможности ее снижения комплексом биопротекторов. *Токсикологический вестник.* 2013; 2: 20-5.

## REFERENCES:

1. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Minigaliev I.A., Loginova N.V. et al. Main results of toxicological experiments in vivo with some metal and metal oxides nanoparticles. *Toksikologicheskij Vestnik.* 2015; 3: 26-39. (in Russian).  
 2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Kireyeva E.P. et al. An approach to tentative reference levels setting for nanoparticles in the workroom air based on comparing their toxicity with that of their micrometric counterparts: A case study of iron oxide Fe3O4. *J. ISRN Nanotechnol.* 2012; 2012. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/143613/>  
 3. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigaliev I.A., Gurvich V.B., Shur V.Y. et al. Is it possible to enhance the organism's resistance to toxic effects of metallic nanoparticles? *J. Toxicol.* 2015; 337: 79-82.  
 4. Katsnelson B.A., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Privalova L.I., Soloboyeva J.I. «Biological prophylaxis» – One of the ways to proceed from the analytical environmental epidemiology to the population health protection. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2008; 14: 41-2.  
 5. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Soloboyeva J.I. Biological Prophylaxis of Adverse Health Effects Caused by Environmental and Occupational Impacts – Theoretical Premises, Experimental and Field Testing, Practical Realization. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2009; 14(1-2): 35-57.  
 6. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A. et al. Enhancing Population's Resistance to Toxic Exposures as an Auxiliary Tool of Decreasing Environmental and Occupational Health Risks (a Self-Overview). *J. of Environ. Protect.* 2014; 5:1435-49.  
 7. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin Y.B. et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14: 2449-83.  
 8. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E. et al. Subchronic Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles and Its Attenuation with the Help of a Combination of Bioprotectors. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15: 12379-406.  
 9. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya. et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *Int. J. of Mol. Sci.* 2015; 16(9): 22555-83.  
 10. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigaliev I.A., Panov V.G., Varaksin A.N. et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *J. Food Chem. Toxicol.* 2015; 86: 351-64.  
 11. Morosova K.I., Katsnelson B.A., Rotenberg Yu.S., Belobragina G.V. A further experimental study of the antisilicotic effect of glutamate. *Br. J. Ind. Med.* 1984; 41(4): 518-25.  
 12. Fröhlich E. Cellular targets and mechanisms in the cytotoxic action of non-biodegradable engineered nanoparticles. *J. Curr. Drug Metab.* 2013; 14: 976-88.  
 13. Karki P., Lee E., Aschner M. Manganese Neurotoxicity: a Focus on Glutamate Transporters. *Ann. Occup. Environ. Med.* 2013; 25 (1): 4.  
 14. White L.D., Cory-Slechta D.A., Gilbert M.E., Tiffany-Castiglioni E., Zawia N.H., Virgolini M. et al. New and evolving concepts of the neurotoxicology of lead. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007; 225: 1-27.  
 15. Desole M.S., Miele M., Esposito G., Migheli R., Fresu L., De Natale G. et al. Dopaminergic system activity and cellular defense mechanisms in the striatum and striatal synaptosomes of the rat subchronically exposed to manganese. *Arch. Toxicol.* 1994; 68: 566-70.  
 16. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Ya., Makeev O.H. et al. Approaches to enhancing the organism's resistance to the adverse effects of nanomaterials as exemplified by nanosilver and nanocopper oxide. *Gigiena i sanitariya.* 2015; 94(2): 31-5. (in Russian).  
 17. Katsnelson B.A., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya. et al. Lower airways response in rats to a single or combined intratracheal instillation of manganese and nickel nanoparticles and its attenuation with a bio-protective pre-treatment. *Toksikologicheskij vestnik.* 2014; 6: 8-14. (in Russian).  
 18. Katsnelson B.A., Makeev O.H., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A. et al. Comparative genotoxicity of nano-silver and nano-gold and its possible decrease using a complex of bioprotectors. *Toksikologicheskij vestnik.* 2013; 2: 20-5. (in Russian).

L.I. Privalova<sup>1</sup>, B.A. Katsnelson<sup>1</sup>, V.B. Gurvich<sup>1</sup>, I.A. Minigaliev<sup>1</sup>, M.P. Sutunkova<sup>1</sup>, O. H. Makeyev<sup>2</sup>, I.E. Valamina<sup>2</sup>, V.Y. Shur<sup>3</sup>, E.V. Grigoryeva<sup>1</sup>, S.V. Klinova<sup>1</sup>, E.V. Shishkina<sup>3</sup>.

## SOME PRINCIPLES AND MEANS OF INCREASING THE ORGANISM'S RESISTANCE TO ADVERSE EFFECTS OF METAL-CONTAINING NANOPARTICLES

<sup>1</sup> Ekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Rospotrebnadzor, 620014 Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Central Research Laboratory, Ural State Medical University, 620109, Ekaterinburg, Russia;

<sup>3</sup> Ural Center for Shared Use «Modern Nanotechnologies», Ural Federal University named after B.N. Eltsin, the first President of Russia, Ekaterinburg 620000, Russian Federation

Particularly high health risks associated with impacts of metal and metal oxide nanoparticles (Me-NPs), and their presence in the occupational environment, not only in nano-industry, but also in some long-existing technologies as well necessitates to maintain levels of hazardous exposures as low as possible and also to find ways to enhance the body's resistance to them. The article briefly discusses the theoretical background of such a «bio-protection». The analysis of the most significant results of experiments with different Me-NPs, shows that against the background of properly selected combinations of certain biologically active agents used in harmless doses, it can be possible to significantly weaken integral and specific toxicity and even genotoxicity of metal-containing nanoparticles.

**Keywords:** nanoparticles, toxicity, genotoxicity, bioprophylaxis.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

УДК 615.9:614.7

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ И МЕТОДИЧЕСКИЕ СООБРАЖЕНИЯ К ОБОСНОВАНИЮ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЖЕЛЕЗОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

М.П. Сутункова

ФБУН «Екатеринбургский  
медицинский-научный центр  
профилактики и охраны здоровья  
рабочих промпредприятий»  
Роспотребнадзора, 620014,  
г. Екатеринбург, Российская  
Федерация

**В**звешенные в воздухе наночастицы (НЧ) оксида железа  $Fe_2O_3$  со средним диаметром  $14 \pm 4$  нм, полученные при искрении стержней железа 99,9 % чистоты, подавались в экспозиционную установку типа «только нос» в течение 4 часов, 5 раз в неделю на протяжении до 10 месяцев при средней концентрации  $1,14 \pm 0,01$  мг/м<sup>3</sup>. Мы нашли очень низкое накопление  $Fe_2O_3$ -НЧ в лёгочной ткани, постепенно нарастающее со временем. Судя по практически нормальной гистологической картине лёгких и лёгочно-ассоциированных лимфоузлов и по низкому содержанию оксипролина в лёгких, интенсивность развивающегося пневмокозиоза не существенна. Функциональные и биохимические показатели состояния организма в большинстве своём остаются нормальными, но некоторые из них заставляют рассматривать испытанную концентрацию НЧ в качестве пороговой по хронической системной токсичности. В соответствии с общими принципами установления ПДК для воздуха рабочей зоны, мы считаем обоснованным предложение концентрации, равной  $0,4$  мг/м<sup>3</sup> в качестве ПДК для железоксидных НЧ.

**Ключевые слова:** наночастицы, растворимость, токсикокинетика.

**Введение.** Наночастицы (НЧ) оксидов железа (НЧОЖ)  $Fe_3O_4$  и  $\gamma$ - $Fe_2O_3$  находят широкое диагностическое и терапевтическое применение в медицине в связи с особыми физическими (в частности, магнитными) свойствами и широко рекламируемой поставщиками «биосовместимостью» и даже «нетоксичностью», которая, однако, не подтверждается экспериментальными данными [1, 2, 3, 4, 5].

Оценка токсичности  $Fe_2O_3$ -НЧ имеет важное значение ещё и потому, что они составляют, наряду с другими химическими формами железа и других металлов, большую или меньшую (в зависимости от ряда технологических параметров) пропорцию в составе аэрозолей конденсации, образующихся при электродуговой и газовой сварке и резке [6, 7, 8]. Между тем, информационный поиск не выявил ни одной публикации, по экспериментальной оценке, токсичности НЧОЖ при ингаляционной экспозиции. Наше собственное предложение установить для  $Fe_3O_4$ -НЧ в воздухе рабочих помещений величину ОБУВ, равную  $0,4$  мг/м<sup>3</sup>,

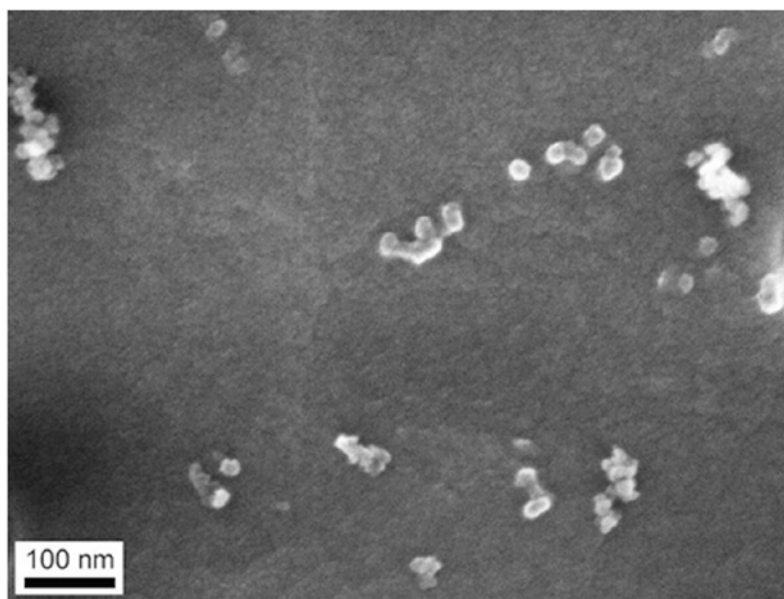
было обосновано результатами интратрахеального и субхронического парентерального экспериментов, доказавших существенно более высокую токсичность этих НЧ по сравнению с микрометровыми частицами  $Fe_3O_4$  [9]. На этом основании был использован принятый в ряде стран принцип снижения примерно на 1-2 порядка величин тех национальных нормативов допустимой экспозиции, которые установлены для микрометрового аналога конкретных металлосодержащих НЧ.

Хронический ингаляционный эксперимент с  $Fe_2O_3$ -НЧ был проведен нами впервые, однако, в опубликованной в 2016 г. статье рассмотрены прежде всего экспериментальные результаты и их математическое моделирование, относящиеся к кинетике задержки этих НЧ в лёгочной ткани, а не данные, характеризующие патологические изменения в организме [10]. Вместе с тем, анализ этих изменений, который приводится в настоящей статье, позволил расценить использованную в эксперименте концентрацию  $Fe_2O_3$ -НЧ как пороговую

и тем самым подойти к обоснованию величины ПДК для НЧОЖ в воздухе рабочей зоны.

**Материалы и методы исследования.** Витяющие НЧ, полученные с помощью искрового разряда между стержнями 99,99 % химически чистого железа в атмосфере азота (генератор наночастиц Palas DNP-3000), окислялись в воздушном потоке и подавались в автоматически управляемую многоярусную ингаляционную установку «башню» типа «только нос» (фирмы CN Technologies, USA) на 60 крыс. Аналогичная «башня», снабжаемая чистым воздухом от того же компрессора, использовалась для параллельно проводимой псевдо-экспозиции (sham exposure) контрольных крыс как показано на рисунке 1, при сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) поликарбонатных фильтров (на которые ежедневно отбирались пробы воздуха из точек присоединения пеналов для крыс) обнаруживаются сферические НЧ либо единичные, либо в структуре небольших агрегатов. Те компактные агрегаты, в которых измерить каждую НЧ затруднительно, измерялись и учитывались в целом как одна частица, но и при таком подходе распределение частиц по размерам оказалось довольно узким и укладывалось в нанометровый диапазон при среднем ( $\pm\sigma$ ) диаметре  $14\pm 4$  нм. При Рамановской спектроскопии (рис. 1) химический состав этих НЧ был идентифицирован как  $Fe_2O_3$ .

Была исследована также растворимость оксида железа  $Fe_2O_3$ , собранного на выходном микропористом PSI фильтре (Performance Systematic, Inc. – USA) из воздуха, отсасываемого от ингаляционной установки. Су-



**Рис. 1.** СЭМ-образы частиц, отобранных на поликарбонатный фильтр из воздуха в точке дыхания крысы

дя по кинетике снижения периодически измеряемого ЭПР сигнала, соответствующего иону  $Fe^{2+}$  (с помощью Bruker EMXplus EPR Spectrometer, USA при температуре  $\sim 177$  К),  $Fe_2O_3$ -НЧ практически не растворимы ни в деионизированной воде, ни в изотоническом растворе NaCl, но постепенно растворяются в испытанных биологических средах: центрифугированной жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ) не экспонированных крыс и стерильной бычьей сыворотке [10]. Кинетика растворения в БАЛЖ аппроксимируется экспоненциальной функцией с коэффициентом скорости растворения  $k=32$  нед $^{-1}$ , а в сыворотке – двумя экспоненциальными функциями с  $k_1=118$  нед $^{-1}$  и с  $k_2=4,9$  нед $^{-1}$ .

Для сравнительного изучения реакции лёгких на разовое интратрахеальное введение  $Fe_2O_3$ -НЧ в сравнении с реакцией на такое же введение равной дозы стандартного кварца DQ12 (ФРГ), имеющего частицы  $<5$  мкм, была получена (методом лазерной абляции того же химически чистого железа в стерильной деионизированной воде) суспензия сферических  $Fe_2O_3$ -НЧ со средним диаметром  $17,1\pm 3,9$  нм.

Токсикологические эксперименты были проведены на аутбредных белых крысах-самках собственного разведения с исходной массой тела  $193,8\pm 1,8$  г в экспонированной и  $193,9\pm 1,2$  г в контрольной группе (начальный возраст около 3 мес.), содержащихся в отдельном виварии при температуре воздуха 20-22 °С, относительной влажности 50-60 % и естественном световом режиме и получавших стандартный сбалансированный корм и чистую бутилированную воду. После 2-недельной тренировки, необходимой для того, чтобы крыса занимала и сохраняла правильное положение в «пенале» установки «только нос», были начаты экспозиции продолжительностью 4 часа в день, 5 раз в неделю.

Крысы были выведены из эксперимента равными группами (по 20 особей в опыте и в контроле) после 3, 6 и 10 месяцев такого воздействия. Средние ( $\pm s_x$ ) концентрации за соответствующие периоды экспозиции составили  $1,00\pm 0,12$ ;  $1,09\pm 0,10$  и  $1,14\pm 0,02$  мг/м $^3$ .

В каждый указанный срок экспозиции определялись: масса тела и внутренних органов; диурез; общая клеточность (меланжерным способом) и клеточный состав (при оптической микроскопии мазка осадка, полученного при центрифугировании) БАЛЖ с полуконтактной атомно-си-

ловой микроскопией поверхности клеток; содержание  $Fe_2O_3$  в лёгочной ткани по спектру электронного парамагнитно резонанса (ЭПР) с помощью Bruker EMX plus EPR Spectrometer (USA) (кроме того, в сроки 6 мес. и 10 мес. задержка  $Fe_2O_3$ -НЧ в лёгких и головном мозгу визуализировалась с помощью электронного микроскопа AURIGA («Carl Zeiss; MT», Германия) в режиме STEM при увеличении в диапазоне 1200-200000; гематологические показатели – содержание гемоглобина, число эритроцитов, ретикулоцитов, лейкоцитов, тромбоцитов (с помощью автоматического анализатора крови MYTHIC-18), формула крови; биохимические показатели крови (общий белок, альбумин, глобулины, глюкоза, креатинин, мочевины, мочевого кислоты, церулоплазмин, восстановленный глутатион; железо, железосвязывающая сила сыворотки, активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, амилазы, гамма-глутамилтранспептидазы, каталазы сыворотки; активность сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах; в моче: МДА, дельта-АЛК, копропорфирин, креатинин, мочевины; в костном мозге: число микроядер в полихроматофильных эритроцитах. После 10-ти месячной экспозиции было проведено гистологическое исследование лёгких, трахеобронхиальных лимфоузлов, печени, селезёнки, почек, головного мозга, а после 3-х и 10-ти месячной экспозиций – определение содержания оксипролина в лёгких.

**Результаты и их обсуждение.** Использованные в эксперименте концентрации  $Fe_2O_3$ -НЧ, близкие к  $1 \text{ мг/м}^3$ , в 2,5 раза выше ранее предложенной для  $Fe_3O_4$  величины ОБУВ в воздухе рабочей зоны, равной  $0,4 \text{ мг/м}^3$  [9]. Однако 4-х часовая разовая ингаляционная экспозиция, принятая в России для проведения хронических ингаляционных экспериментов в целях обоснования ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны (см. «Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны», утверждённые Главным государственным санитарным врачом СССР 4 апреля 1980 г. N 2163-80»), напротив, в 2 раза короче обычной рабочей смены.

Таким образом, наш эксперимент может служить проверкой прогностической нами же безопасности указанного ОБУВ. Следует иметь в виду, что обоснование ОБУВ для  $Fe_3O_4$  предлагало введение понижающего коэффициента в ПДКр.з. и соответствующие национальные нормативы других стран, установленные не для  $Fe_3O_4$ , а именно для  $Fe_2O_3$ . Такой подход был оправдан тем, что существенных различий токсичности разных оксидов железа нет, и не случайно Объединённый Комитет экспертов по пищевым добавкам (Joint Expert Committee on Food Additives) Всемирной организации здравоохранения и Организации ООН по пище и сельскому хозяйству принял для  $Fe_3O_4$  и для  $Fe_2O_3$  одну и ту же величину допустимого ежедневного потребления.

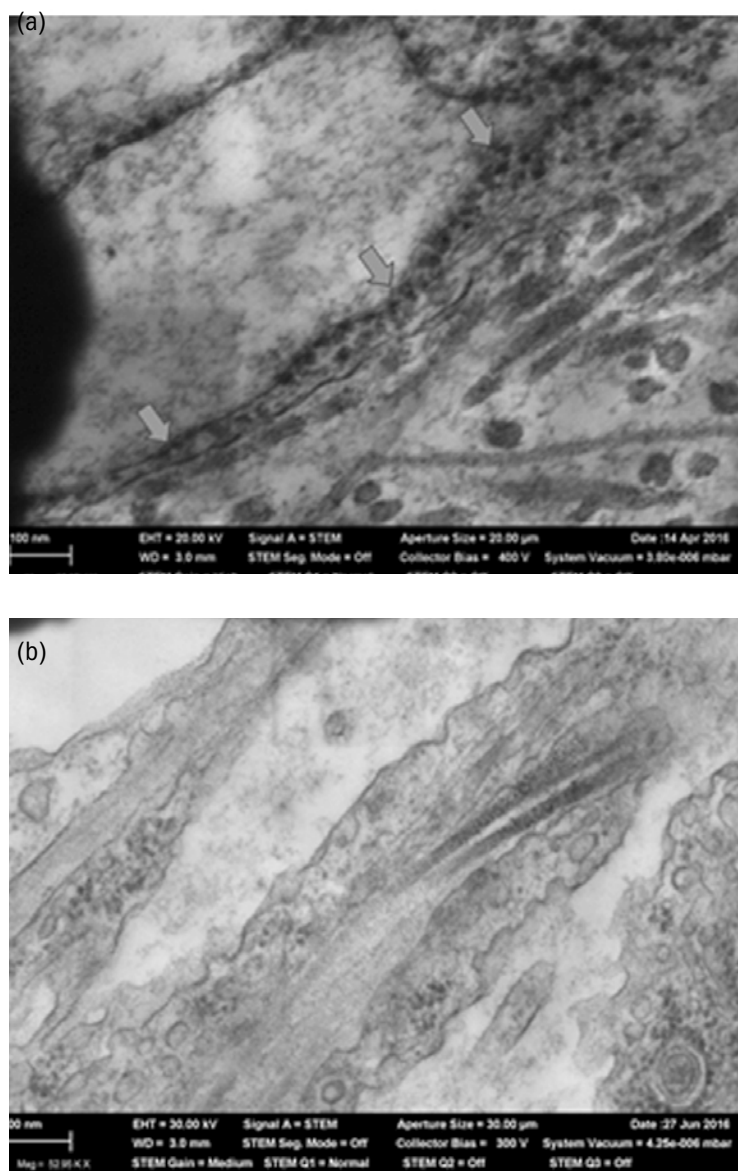
Таблица 1

**Клеточность жидкости, полученной у крыс при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ),  $\times \pm s_x$** 

Воздействие	Число клеток $\times 10^6$			НЛ/АМ
	Все	Альвеолярные макрофаги (АМ)	Нейтрофильные лейкоциты (НЛ)	
24 часа после завершающей экспозиции 3-месячного ингаляционного периода <sup>1</sup>				
Fe2O3- НЧ	2,45±0,33*	1,96±0,28	0,46±0,08*	0,25±0,02*
Контрольная камера	1,47±0,23	1,35±0,21	0,11±0,03	0,08±0,02
24 часа после интратрахеального введения (0,3 мг в 1 мл)				
Fe2O3-НЧ	3,59±0,24**	2,69±0,24	0,84 ±0,09**	0,35±0,06*
Кварц DQ12	5,22±0,32*	3,09±0,24*	2,09±0,41*	0,85±0,28*
Вода (контроль)	2,16±0,26	2,04±0,24	0,12±0,03	0,05±0,01

<sup>1</sup> аналогичные результаты получены после 6 и 10 месяцев ингаляций.

Примечание: \* – статистически значимое ( $p < 0,05$ ) отличие от контрольного показателя; + то же от показателя при действии кварца DQ12.



**Рис. 2.** Альвеолоциты типа I (указаны стрелками) в лёгких крыс (а) после 6 мес. экспозиции (увеличение \*95 370) и (б) соответствующей контрольной группы (увеличение \*52950). НЧ различимы только в случае (а)

ния (Acceptable Daily Intake) железа. Отметим также, что максимальная продолжительность нашего хронического эксперимента (10 мес.) в 2,5 раза больше той 4-х месячной, которая регламентируется вышеуказанными методическими указаниями, что даёт существенный запас надёжности рассматриваемой проверки.

Факт задержки исследованных НЧ в лёгких подтверждается электронной микроскопией (рис 2).

Однако по данным ЭПР-спектроскопии количественно оцениваемое накопление  $Fe_2O_3$ -НЧ в лёгких составило всего  $13,5 \pm 4,3$  мкг за 3 мес.,  $11,5 \pm 6,5$  мкг за 6 мес. и  $34,6 \pm 16,7$  мкг за 10 месяцев ингаляционной экспозиции. Эти

величины во много раз ниже, чем было получено в сопоставимом по дизайну эксперименте немецких авторов, в котором крысы подвергались хроническому ингаляционному воздействию высоко фиброгенной стандартной кварцевой пыли DQ12 при той же средней концентрации  $\sim 1$  мг/м<sup>3</sup> [11]. В этом случае накопление кварца в лёгких составило, например, за 3 и 6 мес. 207 мкг и 550 мкг, соответственно.

Столь низкая задержка наночастиц не может быть объяснена ни низким первичным отложением их в глубоких дыхательных путях при дыхании (которое судя по имеющимся в литературе моделям этого отложения) может быть принято как равное приблизительно 52 % от массы ингалированных частиц), ни более высокой активностью фагоцитарнообусловленного пульмонарного клиренса, поскольку наши данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что активность этого механизма скорее несколько выше в случае действия DQ12 [12]. К тому же, судя по отношению числа нейтрофильных лейкоцитов к числу альвеолярных макрофагов (НЛ/АМ) в БАЛЖ, испытанные  $Fe_2O_3$ -НЧ менее цитотоксичны, чем кварцевые, и, следовательно, фагоцитарный механизм самоочищения лёгких повреждается ими в меньшей степени.

Поэтому наиболее вероятной причиной столь низкой хронической задержки рассматриваемых НЧ является их относительно быстрое растворение в жидкой выстилке пульмонарной области, которое экспериментально моделируется кинетикой растворения в супернатанте БАЛЖ.

Действительно, только включив в ранне разработанную многокамерную модель кинетики лёгочной задержки практически нерастворимых цитотоксичных частиц (в том числе, по данным эксперимента с кварцем DQ12), которая учитывала только физиологические механизмы, её контролирующие, дополнительные элиминационные потоки, обусловленные растворением  $Fe_2O_3$ -НЧ со скоростью, близкой к найденной «in vitro», нам удалось построить кривую накопления, хорошо прогнозирующую вышеприведенные экспериментальные данные о фактической задержке этих НЧ [10, 13, 14, 15].

Однако, какими бы ни были причины низкого уровня накопления  $Fe_2O_3$ -НЧ в лёгочной ткани, оно является доказанным фактом и вполне объясняет низкие количественные

показатели развития пневмокониотического процесса. Как видно из данных, приведенных в таблице 2, хотя к последнему сроку эксперимента и наблюдалось увеличение по сравнению с контролем сухой массы лёгких и содержания оксипролина в них как по абсолютным показателям, так и по показателям, скорректированным на различия массы тела, однако все эти сдвиги невелики и статистически не значимы.

Этому вполне соответствовала и гистологическая характеристика изменений в лёгких и трахеобронхиальных лимфоузлах как слабо-выраженных. Межалвеолярные перегородки не утолщены, их каркас составляют тонкие аригрофильные волокна, представленные в небольшом количестве. Перибронхиально имеется нежная сеть тонких аригрофильных волокон. Респираторные отделы воздушны. В лимфоидной ткани и в синусах трахеобронхиальных лимфатических узлов встречаются небольшие рыхлые скопления макрофагов с железосодержащими частицами в цитоплазме, но аригрофильный каркас лимфатических узлов не отличается существенно от контроля.

Растворение железооксидных наночастиц в лёгких и лимфоузлах с резорбцией железа в кровь (непосредственно или через лимфоток) является предпосылкой к системной резорбтивной токсичности железа. Концентрация железа в сыворотке крови, измеренная только после 3 и 6 месяцев воздействия, была практически не изменена в первый и статистически не значимо увеличена по сравнению с контролем – во второй срок исследования. При этом,

несмотря на существенное удлинение периода экспозиции по сравнению с регламентированной методологией обоснования ПДК, проявления системной токсичности весьма незначительны и в некоторых случаях сомнительны.

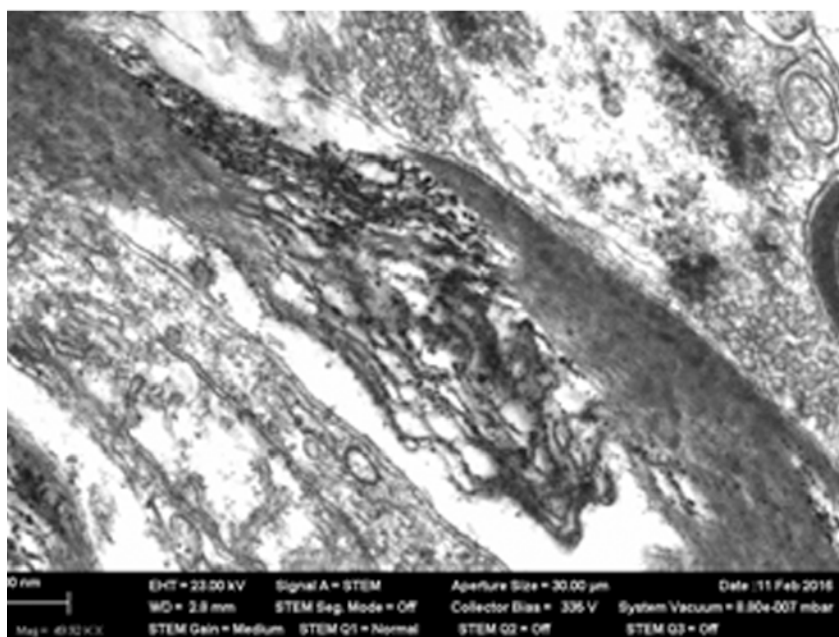
Даже по тем нескольким показателям, по которым во все три срока исследования отличия от контрольной величины имеет одинаковую направленность (задержка прироста массы тела, снижение числа ретикулоцитов, снижение активности щелочной фосфатазы и амилазы в сыворотке крови, и активности сукцинатдегидрогеназы в циркулирующих лимфоцитах, и повышение доли полихроматофильных эритроцитов костного мозга с микроядрами), ни в один из этих сроков указанное различие не было статистически значимым.

Что же касается тех немногих показателей, по которым отличие от контроля оказывалось статистически значимым, то и по ним оно имело место только в один какой-нибудь срок и к тому же не было однонаправленным. Кроме того, трактовка некоторых из таких статистически значимых сдвигов вызывают обоснованные сомнения. Так, например, с позиций критерия вредности затруднительно определить значение выявленного в конце эксперимента статистически значимого повышения числа заглядываний в норки ( $11,05 \pm 1,15$  против  $7,18 \pm 1,19$ ,  $p < 0,05$ ). Как известно, так называемый норковый рефлекс является выработанным эволюцией элементом исследовательского поведения крысы. При том, что в данном случае не было ни повышения общей двигательной активности животных (оцени-

Таблица 2

Относительная масса лёгких и содержание оксипролина в них ( $\bar{x} \pm s_x$ )

Группы	Масса сухих лёгких, г	Масса сухих лёгких на 100 г массы тела	Концентрация оксипролина (мкг в 100 мг сухих лёгких)	Абсолютное содержание оксипролина в лёгких, мкг	Абсолютное содержание оксипролина в лёгких на 100 г массы тела, мкг
Контроль (3 месяца)	$0,30 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,01$	$930,12 \pm 146,56$	$2599,93 \pm 324,23$	$1220,57 \pm 146,40$
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -НЧ (3 месяца)	$0,36 \pm 0,04$	$0,16 \pm 0,02$	$768,46 \pm 88,36$	$2587,69 \pm 269,93$	$1169,32 \pm 110,53$
Контроль (10 месяцев)	$0,33 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,01$	$1043,37 \pm 141,18$	$3440,36 \pm 483,59$	$1413 \pm 208,24$
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -НЧ (10 месяцев)	$0,37 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,06$	$1122,07 \pm 160,63$	$3900,62 \pm 439,94$	$1977,63 \pm 305,19$



**Рис. 3.** Продольное сечение нервного волокна в ольфакторной зоне головного мозга крысы после 10 мес. ингаляционной экспозиции. Очаговое повреждение миелиновой оболочки (отмеченное звёздочками) связано с накоплением наночастиц (отмечено стрелкой). ПЭМ, увеличение \*49 920).

ваемой числом пересеченных квадратов доски), ни преобладания процессов возбуждения над процессами торможения в ЦНС (судя по суммационно-пороговому показателю), такое обособленное повышение исследовательской активности скорее кажется положительным, чем отрицательным сдвигом (если оно вообще не случайно, несмотря на малую, но не нулевую вероятность случайности). Можно отметить также, что, регулярно используя этот показатель в десятках токсикологических экспериментов, мы нередко наблюдали его снижение, но ни разу – повышение.

Статистически значимое различие между опытом и контролем по содержанию гемоглобина в крови в 10-месячный срок ( $148,84 \pm 3,64$  против  $163,29 \pm 3,69$ ,  $p < 0,05$ ) отражает не столько снижение этого показателя в экспонированной группе (в которой оно по сравнению с предыдущим сроком даже несколько повысилось), сколько его выраженное повышение в контрольной. Число тромбоцитов в крови было значимо снижено только в первый срок эксперимента и опять-таки отражает наблюдавшийся только в этот срок высокий контрольный уровень, в то время как в экспонированной группе он был даже более высоким, чем в последующем. Активность сывороточной аланин-аминотрансферазы, напротив, нарастала в экспонированной группе от срока к

сроку, но в контрольной так же последовательно снижалась, так что в этом случае статистически значимое отличие опыта от контроля в 10-месячный срок, возможно, заслуживает большего внимания. Однако ни по одному другому сывороточному показателю гепатотоксического эффекта он не подтверждается.

Только один статистически значимый сдвиг по сравнению с контролем, мимо которого, возможно, не следует пройти, а именно небольшое увеличение коэффициента массы головного мозга к концу эксперимента ( $0,82 \pm 0,01$  против  $0,78 \pm 0,01$  г/100 г массы тела,  $p < 0,05$ ). Не исключено, что оно связано с хорошо известным фактом проникновения в мозг по волокнам ольфакторного нерва тех наночастиц, которые при ингаляции в малом числе отлагаются в носовых ходах [16-18]. В нашем эксперименте немногочисленные очаги наночастиц действительно обнаруживались

в миелиновой оболочке внутри-мозговых нервных волокон, наряду с её очаговым расслоением (рис. 3). Однако в целом накопление  $Fe_2O_3$  в мозгу столь невелико, что не могло быть уловлено ЭПР-спектроскопией.

**Заключение.** Полученные экспериментальные результаты в совокупности с представленными при их обсуждении методическими соображениями позволяют расценить среднюю за полный период экспозиции концентрацию  $1,14 \text{ мг/м}^3$  как пороговую при хроническом ингаляционном воздействии ( $Lim_{ch}$ ) в том значении этого термина, который принят в отечественной профилактической токсикологии.

В соответствии с «Методическими указаниями к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны» так называемый коэффициент запаса, служащий для перехода от пороговой к предельно допустимой концентрации, обычно устанавливается в пределах от 3 до 20. Следует учесть, что по абсолютному большинству эффектов испытанная нами концентрация является фактически не действующей. Кроме того, 2,5-кратное удлинение экспериментального периода по сравнению с предусмотренным этими МУ само по себе вносит значительный запас надёжности в оценку величины  $Lim_{ch}$ . По этим



двум соображениям считаем возможным принять величину коэффициента запаса  $\approx 2,9$ , близкую к указанной минимальной, и тем самым, предложить к утверждению норматив среднесменной ПДК в воздухе рабочей зоны как для диоксида триоксида ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) в форме наночастиц на уровне  $0,4 \text{ мг/м}^3$ .

Эта величина в 15 раз ниже среднесменной ПДК  $6 \text{ мг/м}^3$ , установленной в ГН 2.2.5.1313-03 для того же вещества в обычной форме, и следует отметить, что снижение действующих нормативов на один-полтора порядка

при установлении допустимых уровней экспозиции для металлических и металлооксидных наночастиц соответствует международной практике. Поскольку же она совпадает с ранее обоснованной величиной ОБУВ для наночастиц триоксида железа тетраоксида ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) и учитывая известную из литературы практически одинаковую токсичность  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  и  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , считаем достаточно обоснованным предложить для обсуждения возможность принять концентрацию  $0,4 \text{ мг/м}^3$  в качестве ПДК для наночастиц обоих оксидов железа.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigaliev I.A., Kireyeva E.P., Khodos M.Y., Kozitsina A.N., Malakhova N.A., Glazyrina J.A., Shur V.Y., Shishkin E.I., Nikolaeva E.V. (2010b) Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? *Int J Occup Environ Health* 16:508-524
- Katsnelson B.A., Degtyareva T.D., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Yeremenko O.S., Kireyeva E.P., Sutunkova M.P., Valamina I.I., Khodos M.Y., Kozitsina A.N., Shur V.Y., Vazhenin V.A., Potapov A.P., Morozova M.V. (2011) Sub-chronic systemic toxicity and bio-accumulation of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nano- and microparticles following repeated intraperitoneal administration to rats. *Int J Toxicol* 30:60-67
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Tulakina L.G., Pichugova S.V., Beykin J.B., Khodos M.J. (2012c) The "in vivo" interaction between iron oxide  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles and alveolar macrophages. *J Bull Exp Biol Med* 152:627-631
- Szalay B., Kováčiková Z., Brózik M., Pándics M., Tátrai E. Effects of iron oxide nanoparticles on pulmonary morphology, redox system, production of immunoglobulins and chemokines in rats: in vivo and in vitro studies. *CEJOEM* 2008, Vol.14. No.2.: 149-164
- Soenen S.J., De Cuyper M, De Smedt S.C., Braeckmans K. Investigating the toxic effects of iron oxide nanoparticles. *Methods Enzymol.* 2012; 509: 195-224.
- Ennan, A.A., Kiro, S.A., Oprya, M.V., Vishnyakov, V.I., Particle size distribution of welding fume and its dependency on conditions of shielded metal arc welding. *J. Aerosol Sci.* 2013: 65, 103-110
- Lehnert M., Pesch B., Lotz A., Pelzer J., Kendzia B., Gawrych K., Heinze E., Van Gelder R., Pungenburg E., Weiss T., Mattenklott M., Hahn J.U., Möhlmann C., Berges M., Hartwig A., Brüning T. 2012. Exposure to inhalable, respirable, and ultrafine particles in welding fume. *Ann Occup Hyg.* 56(5), 557- 567
- Lewinski N., Graczyk H., Riediker M., 2013. Human inhalation exposure to iron oxide particles. *BioNanoMat*, 14(1-2), 5-23
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A. (2012) An approach to tentative reference levels setting for nanoparticles in the workroom air based on comparing their toxicity with that of their micrometric counterparts: A case study of iron oxide  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . *J ISRN Nanotechnol* 2012:12
- Sutunkova M.P., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Konyseva L.K., Shur V.Y., Shishkina E.V., Minigaliev I.A., Solovjeva S.N., Grebenkina S.V., Zubarev I.V. (2016) On the contribution of the phagocytosis and the solubilization to the iron oxide nanoparticles retention in and elimination from lungs under long-term inhalation exposure. *J Toxicol* 363:19-28
- Bellmann B., Creutzenberg O., Dasenbrock C., 1991. Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 17, 300-313.
- Kolanjiyil A.V., 2013. Deposited nanomaterial mass transfer from lung airways to systemic regions. A thesis for MSc degree. North Carolina State University. Raleigh, NC.
- Katsnelson B.A., Konyseva L.K., Privalova L.I., Morosova K.I., 1992. Development of a multicompartmental model of the kinetics of quartz dust in the pulmonary region of the lung during chronic inhalation exposure of rats. *Brit. J. Ind. Med.* 49, 172-181.
- Katsnelson, B.A., Konyseva, L.K., Sharapova, N.Ye., Privalova, L.I., 1994. Prediction of the comparative intensity of pneumoconiotic changes caused by chronic inhalation exposure to dusts of different cytotoxicity by means of a mathematical model. *Occup. Environ. Med.* 51, 173-180.
- Katsnelson B.A., Konyseva L.K., Privalova L.Y., Sharapova N.Y., 1997. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartmental model: Further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles. *Inhalat. Toxicol.* 9, 703-715.
- Oberdörster G., Sharp Z., Atudore V., Elder A., Gelein R., Kreylin W., 2004. Translocation of inhaled ultrafine particle to the brain. *Inhal. Toxicol.* 16 (6/7), 437-445.
- Elder A., Gelein R., Silva V., Feikert T., Opanashuk L., Carter J., Potter R., Maynard A., Ito Y., Finkelstein J., Oberdörster G., 2006. Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Environ. Health Perspect.* 114(8), 1172-1178.
- Kao Y.-Y., Cheng T.-J., Yang D.-M., Liu P.-Sh., 2012. Demonstration of an olfactory bulb-brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent eils in vitro and in vivo. *J. Molecular Neurosci.* 48(2), 464-71.

M.P. Sutunkova.

## EXPERIMENTAL DATA AND METHODOLOGICAL CONSIDERATIONS FOR JUSTIFICATION OF IRON OXIDE NANOPARTICLES MAXIMUM ALLOWABLE CONCENTRATION IN OCCUPATIONAL AIR

Ekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Rospotrebnadzor, 620014 Ekaterinburg, Russian Federation

Airborne  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  nanoparticles (NPs) with an average diameter of  $14 \pm 4 \text{ nm}$ , obtained by sparking iron rods of 99.9% purity were fed to a "nose only" type exposition installation for 4 hours 5 times a week over 10 months at an average concentration of  $1.14 \pm 0.01 \text{ mg} / \text{m}^3$ . A very low accumulation of  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ -NPs in the lung tissue gradually increasing over time was found out. As judged by the almost normal histology of lung and lung-associated lymph nodes and low content of hydroxyproline in the lungs, the intensity of the developing pneumoconiosis was not important. Functional and biochemical indices of the body's condition mostly remained normal, but some of them made consider tested NP concentration as threshold value in the chronic systemic toxicity. In accordance with general principles of setting MAC for occupational air, it was suggested to consider justified a concentration of  $0.4 \text{ mg} / \text{m}^3$ , as MAC value for iron-oxide NPs.

**Keywords:** nanoparticles, solubility, toxicokinetics.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

УДК 615.9

## НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

*И.А. Минигалиева*

ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Т**оксичность наночастиц (НЧ) оксидов нескольких металлов была изучена на аутбредных крысах-самках при изолированном и комбинированном ( $\text{NiO}+\text{Mn}_3\text{O}_4$ ;  $\text{CuO}+\text{PbO}$ ;  $\text{CuO}+\text{ZnO}$ ;  $\text{PbO}+\text{ZnO}$ ;  $\text{PbO}+\text{CuO}+\text{ZnO}$ ) действии с использованием двух экспериментальных моделей: (а) однократная интратрахеальная инстилляция в малых дозах за 24 часа до проведения бронхоальвеолярного лаважа для цитологического и биохимического исследования получаемой жидкости; (б) повторные внутрибрюшинные инъекции на протяжении 6 недель в несмертельной дозировке, для оценки, вызванной этой субхронической интоксикацией по большому числу функциональных и морфометрических показателей и показателей био-распределения и элиминации соответствующих металлов. Комбинационные эффекты описывались различными математическими моделями, включая построение поверхности отклика. Было продемонстрировано многообразие типов комбинированной токсичности для одной и той же пары НЧ в зависимости от того, для какого конкретного эффекта она оценивается, а нередко также от дозо-зависимого уровня этого эффекта. Показано также, что риск-ориентированный подход к классификации трёхфакторной токсичности, ранее развитый для комбинированного действия металлов в ионно-молекулярной форме, адекватен и для изученных НЧ.

**Ключевые слова:** комбинированная токсичность, наночастицы.

Чем шире использование наноматериалов в технике, науке, медицине и быту, тем выше вероятность того, что человек будет подвергаться, если не одновременно, то последовательно комбинированному воздействию нескольких химически различающихся видов наночастиц (НЧ). Наряду с этим, уже давно лица, занятые в пирометаллургических и сварочных производствах, почти неизбежно подвергаются ингаляционному воздействию той или иной комбинации металлооксидных НЧ, образующихся как побочный продукт технологии, и загрязняющих воздух рабочей зоны и окружающую атмосферу, поскольку комбинированный характер такого загрязнения задан составом выплавляемых или свариваемых металлов, электродной обмазки, флюсов и т.п. Между тем, на фоне активного развития общей и частной нанотоксикологии металлов, характеризующего последнее десятилетие, отмечается недостаточность работ по сравнительной оценке токсичности различных

нанометаллов, и практически полное отсутствие внимания к анализу закономерностей их комбинированного действия [1].

Это положение тем более удивительно, что общая проблема комбинированного действия ядов и анализа его закономерностей и практических аспектов, в том числе, проблема комбинированной токсичности металлов в ионно-молекулярной форме, является одной из давно и широко развиваемых в научной токсикологии. В частности, наш исследовательский коллектив, руководимый заслуженным деятелем науки РФ профессором Б. А. Кацнельсоном и включающий в себя, наряду с токсикологами-экспериментаторами, специалистов по математическому моделированию, только за последние годы выполнил и опубликовал ряд работ по этой проблеме [2, 3, 4, 5, 6]. Критическое обсуждение взглядов, преобладающих в научной литературе, и обобщение результатов собственных экспериментов с 5-ю бинарными

*Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Il'zira Amirovna)*, кандидат биологических наук, зав. лабораторией промышленной токсикологии, старший научный сотрудник ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, ilzira@umrc.ru

ми (Pb-Cd, Pb-F, Cr-Ni, Cr-Mn, Ni-Mn) и одной тройной (Cr-Ni-Mn) комбинациями на однотипной модели субхронической интоксикации, вызываемой повторными внутривенными инъекциями солей перечисленных элементов изолированно или совместно, с применением математического планирования эксперимента и математического описания его результатов привело нас к формулировке нескольких принципиальных постулатов, а именно:

Широко используемые в теоретической токсикологии смеси основных понятия «аддитивность эффектов» (частным случаем которой является так называемая независимость Бласса) и «аддитивность доз» (называемая также аддитивностью Лёве) в реальности оказываются взаимозаменяемыми и поэтому скорее отражают метод математического моделирования комбинированного действия, чем фундаментально различающиеся парадигмы, в качестве которых они обычно рассматриваются.

Помимо трёх основных типов комбинированного действия (аддитивность, субаддитивность и супераддитивность, или синергизм), традиционно описываемых, хотя и по-разному определяемых в рамках обеих парадигм, чаще всего сложные варианты сочетания этих типов в зависимости от того, по какому конкретному эффекту воздействия они оцениваются, а также от величины этого эффекта и от уровня доз комбинируемых факторов.

При характеристике развития интоксикации большим числом эффектов, по некоторым из них обычно наблюдается не только однонаправленное действие вышеуказанных типов, но и противоположное (то есть явный антагонизм), причём нередко одна и та же пара токси-

кантов действует при одном соотношении доз однонаправленно, а при другом – в противоположных направлениях.

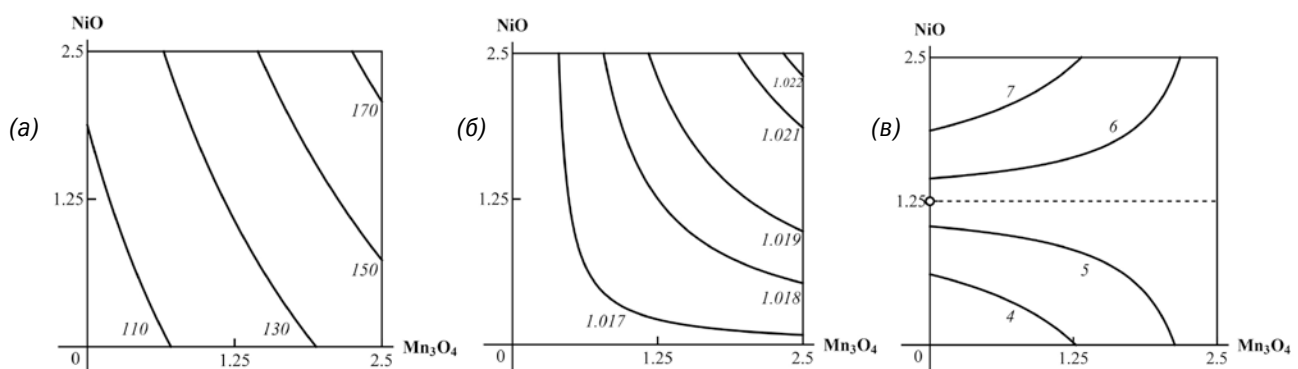
На фоне действия третьего токсиканта тип бинарной токсичности двух других компонентов тройной комбинации может остаться в принципе тем же, что и в его отсутствии, но может измениться как в сторону повышения, так и в сторону понижения эффекта.

В дальнейшем справедливость этих постулатов была подтверждена нашими исследованиями, проведенными по тому же дизайну субхронической парентеральной интоксикации, а также при однократном интратрахеальном введении метало-оксидных НЧ изолированно и в комбинациях: NiO-NP+Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NP; PbO-NP+CuO-NP, PbO-NP+ZnO-NP, ZnO-NP+CuO-NP; PbO-NP+CuO-NP+ZnO-NP [11, 12].

Некоторые примеры, демонстрирующие зависимость комбинированной токсичности указанных НЧ от вида и уровня токсического эффекта, по которому она оценивается, представлены изоболом Лёве, построенными с помощью RSM (рис. 1-4).

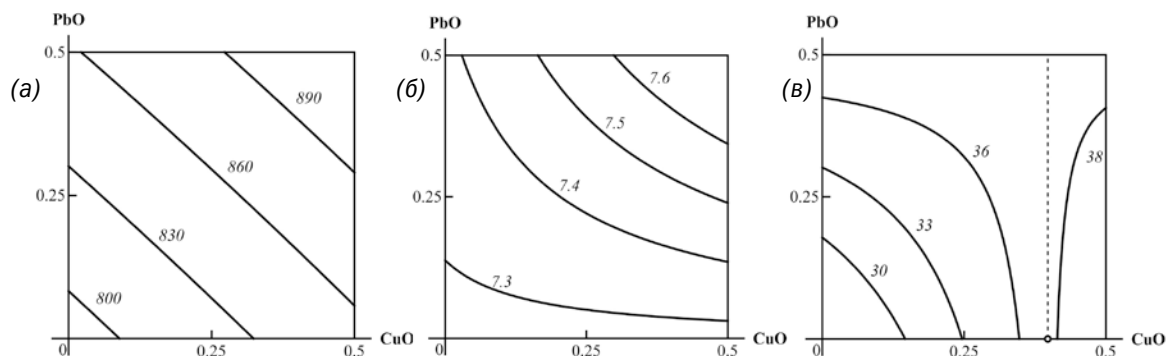
В принципе аналогичное разнообразие типов комбинированной токсичности метало-оксидных НЧ в зависимости от характера и уровня эффекта обнаружено и по показателям, характеризующим жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ), проводившегося через 24 часа после однократного интратрахеального введения наносуспензий (рис. 5).

В соответствии с вышеприведенным постулатом (4) мы впервые предложили риск-ориентированную классификацию эффектов трёхфакторного воздействия, основанную на оценке того, становится ли при наличии третьего фактора



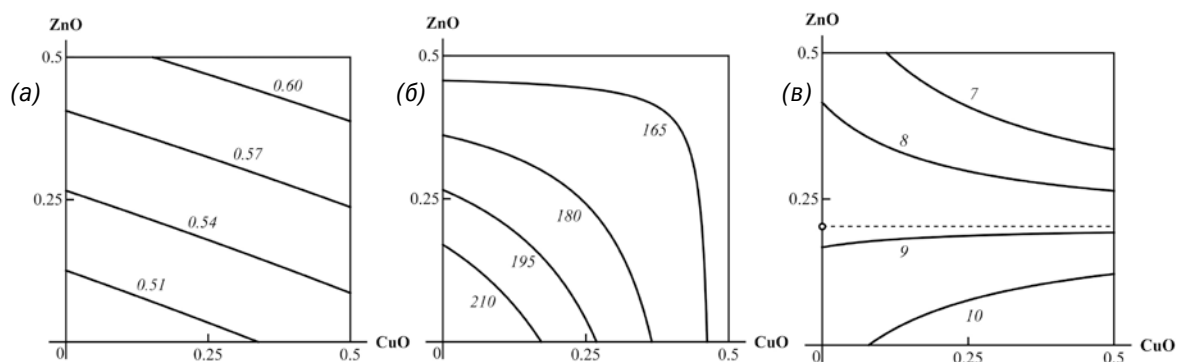
**Рис. 1.** Примеры изобол комбинированной субхронической токсичности NiO-НЧ+Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-НЧ:

- (а) по влиянию на концентрацию мочевой кислоты в сыворотке крови (аддитивность однонаправленного действия);  
 (б) по влиянию на относительную плотность мочи (синергизм при низких и аддитивность однонаправленного действия при высоких уровнях ответа);  
 (в) по влиянию на процент безъядерных гепатоцитов (субаддитивность однонаправленного действия при низких и противоположное действие при высоких уровнях ответа). На осях дозы Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and NiO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (по мочевой кислоте в мкмоль/л).



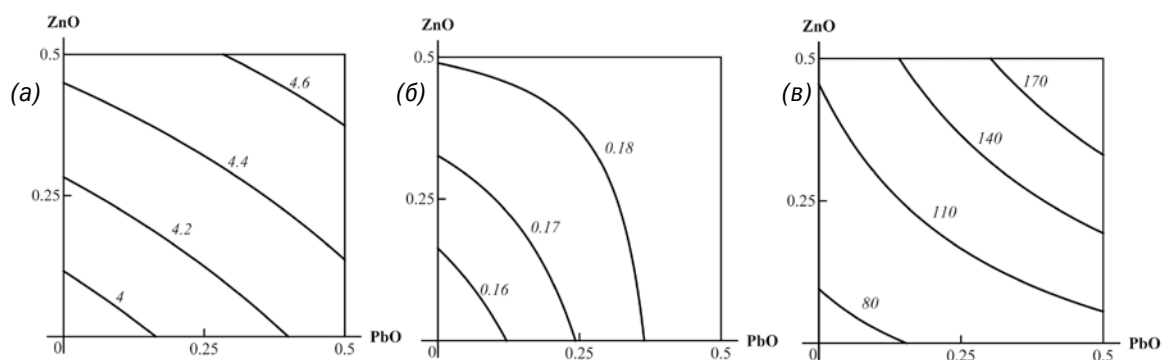
**Рис. 2.** Примеры изобол комбинированной субхронической токсичности CuO-НЧ+PbO-НЧ:

(а) по влиянию на число тромбоцитов в крови (аддитивность однонаправленного действия);  
 (б) по влиянию на число эритроцитов в крови (синергизм при низких и аддитивность однонаправленного действия при высоких уровнях ответа);  
 (в) по влиянию на диурез (субаддитивность однонаправленного действия при низких и противонаправленное действие при высоких уровнях ответа). На осях дозы PbO and Cu мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (тромбоциты \*10<sup>9</sup> /л; эритроциты \*10<sup>12</sup> /L; суточный диурез в мл).



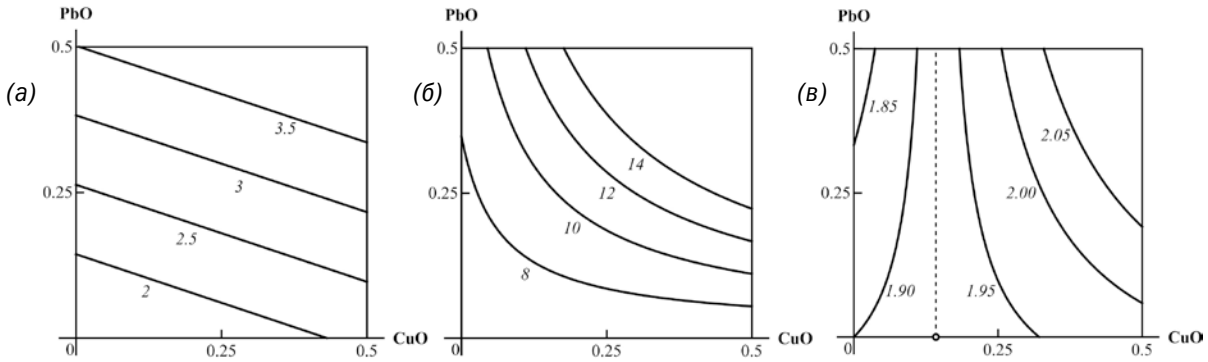
**Рис. 3.** Примеры изобол комбинированной субхронической токсичности CuO-НЧ+ZnO-НЧ:

(а) по влиянию на тромбоцит (аддитивность однонаправленного действия);  
 (б) по влиянию на активность щёлочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови (субаддитивность однонаправленного действия);  
 (в) по влиянию на уровень тестостерона в сыворотке крови (синергизм однонаправленного действия при высоких уровнях и противонаправленность действия при низких уровнях ответа). На осях дозы ZnO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (тромбоцит в долях объёма крови; ЩФ а Ед/л; тестостерон в нМоль/л).



**Рис. 4.** Примеры изобол комбинированной субхронической токсичности PbO-НЧ+ZnO-НЧ:

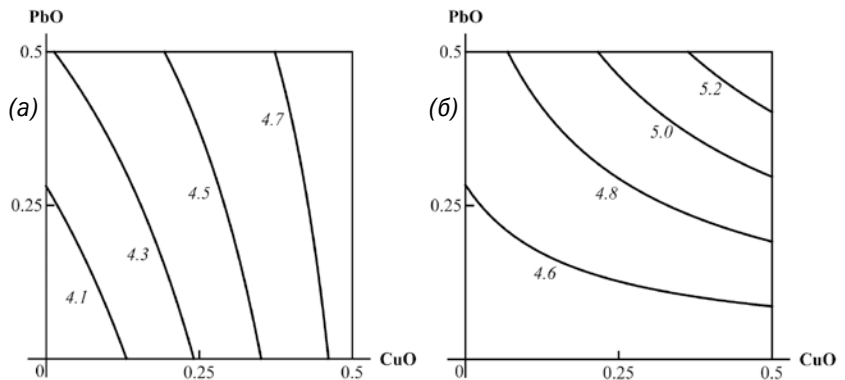
(а) по влиянию на коэффициент Де Ритиса (аддитивность однонаправленного действия);  
 (б) по влиянию на активность фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в сыворотке крови (субаддитивность однонаправленного действия);  
 (в) по влиянию на концентрацию копропорфирина в моче (синергизм однонаправленного действия). На осях дозы ZnO and Pb O в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта коэффициент Де Ритиса безразмерный; ФСГ в Ед /л; копропорфирин в нМоль/л).



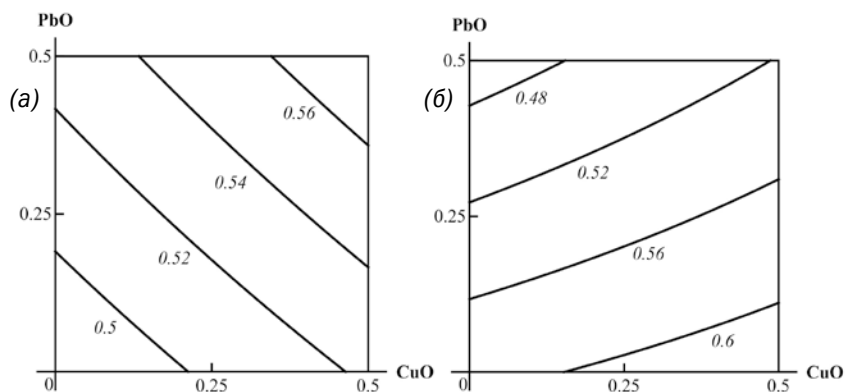
**Рис. 5.** Примеры изобол комбинированной острой лёгочной токсичности CuO-НЧ+PbO-НЧ: (а) по влиянию на общую клеточность БАЛЖ (аддитивность однонаправленного действия); (б) по влиянию на активность амилазы в супернатанте БАЛЖ (синергизм однонаправленного действия); (в) по влиянию на уровень альбумина в супернатанте БАЛЖ (противонаправленное действие при низких и синергизм однонаправленного действия при высоких уровнях ответа). На осях дозы PbO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (число клеток \* 10<sup>6</sup>, активность амилазы в Ев/л IU/L, альбумин в г/л).

тип бинарной комбинированной токсичности, оцененный относительно данного эффекта, более неблагоприятным (класс А) или менее неблагоприятным (класс В) для организма, или остаётся в принципе тем же (класс С) [2]. Этот подход был успешно испытан при субхронической комбинированной интоксикации солями никеля, хрома (VI) и марганца (VII), причём была выявлена внутренняя непротиворечивость предложенной классификации, воспроизводимой в статистически значимом числе случаев при рассмотрении в качестве третьего любого из трёх факторов комбинации. Затем этот подход был испытан в аналогичном субхроническом эксперименте с тройной комбинацией металло-оксидных (CuO+PbO+ZnO) НЧ, и были выявлены в принципе те же закономерности [13]. Примеры изоболограмм, типичных для каждого из вышеназванных классов, даны рисунками 6, 7 и 8.

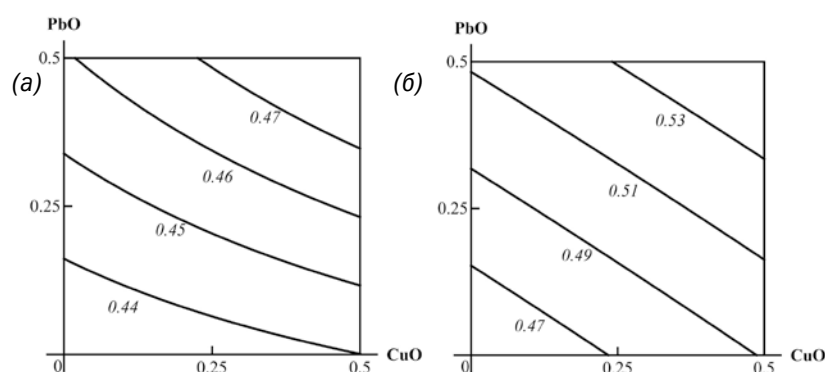
Отметим, что опасность всей тройной комбинации в целом должна оцениваться как заведомо особо высокая не только по тем эффектам, которые были отнесены к классу А, но и по тем, которые попали в класс С, поскольку и в этом случае суммарный вредный эффект будет выше эффекта любого из компонентов комбинации, действу-



**Рис. 6.** Пример трёхфакторной токсичности металло-оксидных НЧ, отнесенной к классу А: аддитивное однонаправленное действие PbO-НЧ и CuO-НЧ на коэффициент Де Ритиса, выявленное при отсутствии третьего компонента токсической комбинации, переходит в синергизм на фоне одновременного действия ZnO-НЧ. На осях дозы PbO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (безразмерное отношение).



**Рис. 7.** Пример трёхфакторной токсичности металло-оксидных НЧ, отнесенной к классу В: аддитивное однонаправленное действие PbO-НЧ и CuO-НЧ на показатель тромбокриты, выявленное при отсутствии третьего компонента токсической комбинации, переходит в противонаправленное на фоне одновременного действия ZnO-НЧ. На осях дозы PbO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в долях объёма крови).



**Рис. 8.** Пример трёхфакторной токсичности металло-оксидных НЧ, отнесенной к классу С: аддитивное однонаправленное действие PbO-НЧ и CuO-НЧ на коэффициент фрагментации ДНК ядерных клеток крови выявляется как при отсутствии, так и на фоне одновременного действия ZnO-НЧ. На осях дозы PbO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (безразмерное отношение).

ющего изолированно. Это утверждение можно проиллюстрировать в отношении примера класса С, показанного на рисунке 8. Как видно из рисунка 9, генотоксический эффект «ин vivo», являющийся в разной степени выраженной,

но обязательной особенностью субхронических интоксикаций всех испытанных нами металло-оксидных НЧ, а также НЧ элементарных серебра и золота, оказался при одновременном действии CuO-НЧ, PbO-НЧ и ZnO-НЧ существенно более высоким, чем при действии каждого вида НЧ в отдельности [14].

Токсикодинамические и токсикокинетические механизмы комбинированной нанотоксичности, как и комбинированной токсичности в целом, многообразны и далеко не всегда достаточно понятны. При этом мы находим, что токсикокинетические взаимодействия между компонентами комбинации далеко не всегда могут объяснить функциональные эффекты комбинированной интоксикации, но важно отметить, что такие взаимодействия (хоть и не всегда легко объяснимые сами по себе) действительно имеют место. Например, как видно из данных, представленных в таблице 1, при комбинированной

Таблица 1

**Содержание марганца и никеля (по данным атомно-эмиссионной спектроскопии) в органах крыс после 18 повторных (на протяжении 6 недель) внутрибрюшинных введений наночастиц NiO и/или Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> в дозе 0.50 мг, мкг на г сухой ткани (X±s.e.)**

Металл	Группы крыс, которым вводили:			
	Воду без НЧ	NiO-НЧ	Mn <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -НЧ	NiO-НЧ+Mn <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -НЧ
В печени				
Марганец	7,33±0,56	6,33±0,49	7,20±0,73	6,80±0,20
Никель	3,17±0,65	16,40±3,26*+○	2,80±0,20+	38,00±2,80*+○
В селезёнке				
Марганец	28,80±1,74	32,00±4,15	25,00±1,87	25,83±4,23
Никель	25,60±1,89	46,75±8,44*	32,50±4,63	36,17±7,21
В почках				
Марганец	13,75±0,95	10,00±0,63*○	20,50±1,45*+	10,80±1,11
Никель	18,20±1,56	20,60±3,23	16,00±1,58	17,60±1,29
В головном мозгу				
Марганец	6,00±0,45	7,17±0,98	10,75±1,70*	7,60±1,08
Никель	14,67±0,96	12,83±1,20	15,75±2,46	15,80±2,65

Примечание: статистически значимое отличие: \* от контрольной группы; +от группы, получавшей комбинацию наночастиц NiOи Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; ○ от группы, получавшей наночастицы Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (p <0.05 по t Стьюдента)

Таблица 2

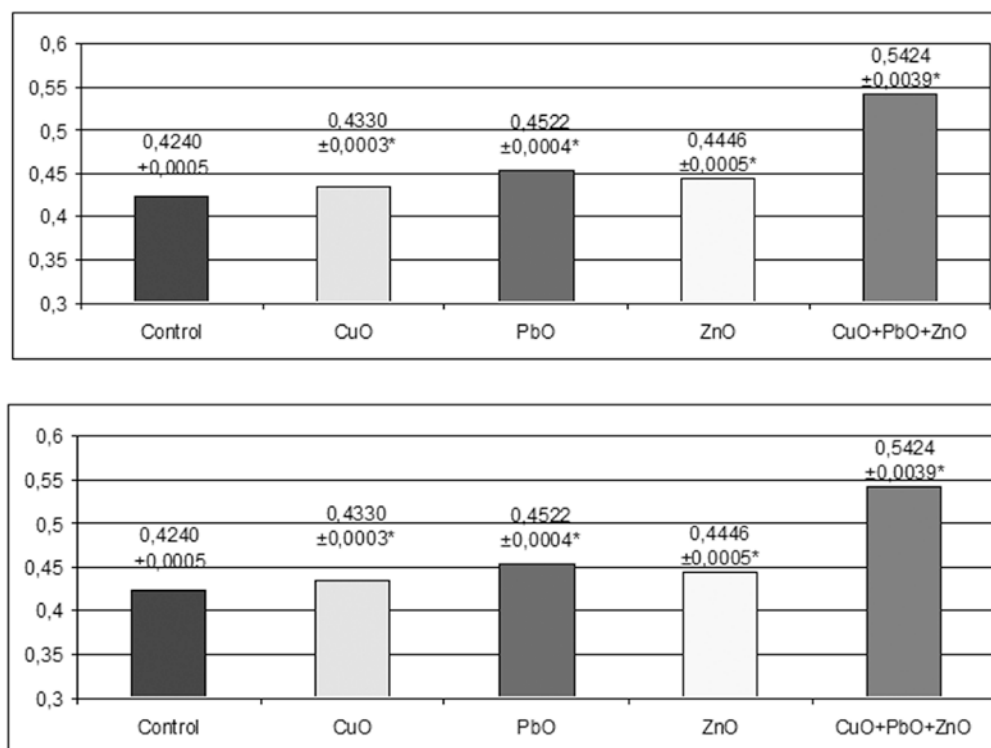
**Суточная экскреция марганца и никеля с мочой (по данным атомно-эмиссионной спектроскопии) в органах крыс после 18 повторных (на протяжении 6 недель) внутрибрюшинных введений наночастиц NiO и/или Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> в дозе 0.50 мг, мкг (X±s.e.)**

Металл	Группы крыс, которым вводили			
	Воду без НЧ	NiO-НЧ	Mn <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -НЧ	NiO-НЧ+Mn <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -НЧ
Марганец	0,06±0,05	0,008±0,006+○	0,06±0,01+	0,52±0,1*
Никель	2,9±0,2	37,9±5,3*+○	0,63±0,3*+	16,7±2,9*

Примечание: статистически значимое отличие: \* от контрольной группы; + от группы, получавшей комбинацию наночастиц NiO и Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; ○ от группы, получавшей наночастицы Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (p < 0.05 по t Стьюдента)

интоксикации наночастицами NiO и Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> накопление никеля в печени (но не в селезёнке, почках и головном мозгу) существенно выше, чем при изолированной интоксикации наночастицами NiO. Напротив, та же комбинированная экспозиция вызывает статистически значимо меньшее накопление марганца в почках и незначимое, но заметно меньшее в мозгу по сравнению с изолированной экспозицией к Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-НЧ. Вместе с тем, почечная экскреция марганца в группе комбинированного воздействия была парадоксально повышена, а экскреция никеля – снижена по сравнению с соответствующими группами изолированных НЧ-интоксикаций (табл. 2), а морфометрические показатели нефротоксичности были максимальными при комбинированной интоксикации.

Так, например, в почечных гистологических срезах через извитые каналцы первого порядка процент периметра с десквамацией эпителия составил 0 в контроле, 0,48±0,36 при воздействии NiO-НЧ, 0,28±0,32 при воздействии Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-НЧ



**Рис. 9.** Коэффициент ДНК-фрагментации (X±s.e.) по данным ПДАФ-теста на ядерных клетках крови крыс при субхронической интоксикации наночастицами оксидов меди, свинца и цинка. Звёздочкой отмечено статистически значимое отличие от контрольного показателя, при этом показатель комбинированного эффекта значимо выше показателей при изолированном действии всех НЧ (p < 0,05 по t Стьюдента)

и 2,43±1,0 при комбинированной экспозиции, а соответствующие среднегрупповые показатели потери щёточной каёмки составили 5,44±0,9; 10,3±1,7; 9,02±1,17 и 12,33±2,3.

**Заключение.** Для эффектов комбинированного вредного действия на организм металло-оксидных наночастиц характерны те же основные закономерности, что и для ранее изученной комбинированной токсичности металлов и металлоидов в ионно-молекулярной форме.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tong T., Wilke C.M., Wu J., Binh C.T., Kelly J.J., Gaillard J.F., et al. Combined toxicity of nano-zno and nano-tio2: from single- to multinanomaterial systems. *J Environ Sci Technol.* 2015; 49 (13): 8113-8123.
2. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigaliev I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.
3. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., Beresneva Yu.O. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. *Food Chem Toxicol.* 2014; 64:144-156.
4. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A., et al. Enhancing population's resistance to toxic exposures as an auxiliary tool of decreasing environmental and occupational health risks (a self-overview). *Journal of Environmental Protection.* 2014; 5: 1435-1449.
5. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Panov V.G., Varaksin A.N., et al. Toxicodynamic and toxicokinetic descriptors of combined chromium(VI) and nickel toxicity. *Int J Toxicol.* 2014; 33(6): 498-505.
6. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead-fluoride combination). *J Toxicol Rep.* 2015; 2: 297-307.
7. Box G.E.P., Draper N.R. *Response Surfaces, Mixtures, and Ridge Analyses.* Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2007.
8. Tallarida R.J. *Drug Synergism: Its Detection and Applications.* *J Pharmacol Exp Therapeutics.* 2001; 298 (3):865-872.
9. Euling S., Gennings C., Wilson E.M., Kemppainen J.A., Kelce W.R., Kimmel C.A. Response-Surface Modeling of the Effect of 5-Dihydrotestosterone and Androgen Receptor Levels on the Response to the Androgen Antagonist Vinclozin. *J Toxicol Sci.* 2002; 69 (2): 332-343.
10. Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson-Cook C.M. *Response Surface Methodology. Process and Product Optimization Using Designed Experiments,* 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2009.
11. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya., et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *Int J of Mol Sci.* 2015; 16 (9): 22555-22583.
12. Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Кузьмин С.В., Киреева Е.П., Минигалиева И.А. и др. О роли биопрофилактики в системе мер управления профессиональными и экологически обусловленными химическими рисками для здоровья населения. *Токсикологический Вестник.* 2015; (1): 10-21.
13. Katsnelson B.A., Panov V.G., Varaksin A.N., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P. Changes in the «dose-response» relationship of one toxicant under simultaneous exposure to another toxicant. *Dose-response.* 2016; in press.
14. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin Y.B., et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 2449-2483.

## REFERENCES:

1. Tong T., Wilke C.M., Wu J., Binh C.T., Kelly J.J., Gaillard J.F., et al. Combined toxicity of nano-zno and nano-tio2: from single- to multinanomaterial systems. *J Environ Sci Technol.* 2015; 49 (13): 8113-8123.
2. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigaliev I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.
3. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., Beresneva Yu.O. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. *Food Chem Toxicol.* 2014; 64:144-156.
4. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A., et al. Enhancing population's resistance to toxic exposures as an auxiliary tool of decreasing environmental and occupational health risks (a self-overview). *Journal of Environmental Protection.* 2014; 5: 1435-1449.
5. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Panov V.G., Varaksin A.N., et al. Toxicodynamic and toxicokinetic descriptors of combined chromium(VI) and nickel toxicity. *Int J Toxicol.* 2014; 33(6): 498-505.
6. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead-fluoride combination). *J Toxicol Rep.* 2015; 2: 297-307.
7. Box G.E.P., Draper N.R. *Response Surfaces, Mixtures, and Ridge Analyses.* Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2007.
8. Tallarida R.J. *Drug Synergism: Its Detection and Applications.* *J Pharmacol Exp Therapeutics.* 2001; 298 (3):865-872.
9. Euling S., Gennings C., Wilson E.M., Kemppainen J.A., Kelce W.R., Kimmel C.A. Response-Surface Modeling of the Effect of 5-Dihydrotestosterone and Androgen Receptor Levels on the Response to the Androgen Antagonist Vinclozin. *J Toxicol Sci.* 2002; 69 (2): 332-343.
10. Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson-Cook C.M. *Response Surface Methodology. Process and Product Optimization Using Designed Experiments,* 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2009.
11. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya., et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *Int J of Mol Sci.* 2015; 16 (9): 22555-22583.
12. Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Кузьмин С.В., Киреева Е.П., Минигалиева И.А. и др. О роли биопрофилактики в системе мер управления профессиональными и экологически обусловленными химическими рисками для здоровья населения. *Токсикологический Вестник.* 2015; (1): 10-21. (in Russian).
13. Katsnelson B.A., Panov V.G., Varaksin A.N., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P. Changes in the «dose-response» relationship of one toxicant under simultaneous exposure to another toxicant. *Dose-response.* 2016; in press.
14. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin Y.B., et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 2449-2483.

I.A. Minigaliev

## SOME REGULARITIES OF METAL OXIDE NPs COMBINED TOXICITY

Ekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Rospotrebnadzor, 620014 Ekaterinburg, Russian Federation

Toxicity of oxides nanoparticles (NPs) of some metals was studied in outbred female rats under isolated and combined action of (NiO + Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; CuO + PbO; CuO + ZnO; PbO + ZnO; PbO + CuO + ZnO) using two experimental models: (a) a single intratracheal instillation in small doses 24 hours prior to the bronchoalveolar lavage procedure in cytology and biochemical investigations into the fluid produced; (b) repeated intraperitoneal injections at non-lethal dosage over 6 weeks to evaluate that sub-chronic intoxication produced using a great number of functional morphometric parameters and indicators of bio-distribution and elimination of the respective metals. Combination effects were described by various mathematical models including the construction of response surface. A variety of combined toxicity types was demonstrated for the same pair of NPs according to what concrete effect the toxicity was assessed and frequently also according to dose-dependent level of that effect. It was also shown that the risk-oriented approach to the classification of three-factor toxicity, previously developed for the combined action of metals in ion-molecular form, was adequate for NPs investigated,

**Keywords:** combined toxicity, nanoparticles.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.



УДК [615.46.014.47:615.28]:546.26

# ЭФФЕКТИВНЫЕ И БЕЗОПАСНЫЕ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ УГЛЕРОДНЫЕ СОРБЕНТЫ МЕДИЦИНСКОГО И ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ НАНОГЛОБУЛЯРНОГО УГЛЕРОДА

Л.Г. Пьянова<sup>1,2</sup>,  
В.А. Лихолобов<sup>1,2</sup>,  
А.В. Седанова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем переработки углеводородов Сибирского отделения Российской академии наук, ИППУ СО РАН, 644040, г. Омск, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФГБОУ Высшего образования «Омский государственный технический университет» (ОмГТУ), 644050, г. Омск, Российская Федерация

**В** Институте проблем переработки углеводородов СО РАН разработаны технологические подходы к целенаправленному синтезу пористых углерод-углеродных материалов нового класса на основе наноглобулярного дисперсного углерода (диаметр частиц 40-60 нм). Углеродные материалы медицинского назначения: гемосорбент углеродный в физиологическом растворе стерильный ВНИИТУ-1, энтеросорбент углеродный ВНИИТУ-2, энтеросорбент углеродный Зоокарб и полученные на их основе модифицированные материалы – безопасные и эффективные препараты для решения задач медицины и ветеринарии. В статье представлены результаты исследований влияния гемосорбента ВНИИТУ-1 на биохимические показатели плазмы крови больных с перитонитом (веществ с низкой и средней молекулярной массой, креатинина и аммиака). Приведены результаты исследования по применению энтеросорбента Зоокарб при хронической интоксикации животных соединениями тяжелых металлов - цинка и железа. Проведена оценка эффективности образцов углеродных гемосорбента и энтеросорбента, модифицированных полиаргинином, по отношению к провоспалительным цитокинам (интерлейкину 6, интерлейкину 8).

**Ключевые слова:** углеродные сорбенты, наноглобулярный углерод, ИППУ СО РАН, требования к безопасности лекарственных препаратов, гемосорбент углеродный стерильный в физиологическом растворе ВНИИТУ-, энтеросорбент углеродный Зоокарб, композиционный ветеринарный препарат «Бетулин в углеродной микросфере», углеродный сорбент с полиаргинином.

**Введение.** В настоящее время существует широкий ассортимент лекарственных средств и медицинских изделий, отличающиеся по типу воздействия, эффективности, показаниям. Немаловажную роль играет и их стоимость, но разработка новых, более эффективных и безопасных препаратов (лекарственных средств, изделий медицинского назначения) весьма актуальна.

Требования к безопасности и качеству разрабатываемых препаратов устанавливаются на этапах их разработки, производства с при-

менением материалов, соответствующих требованиям медицины. Требования к качеству оцениваются по нормам, регламентируемым стандартами или техническим условиям.

Безопасность применения определяется отсутствием следующих вредных факторов: травматического воздействия на организм (механического, теплового, химического и др.); выделения вредных для организма веществ, в том числе токсических, аллергических, канцерогенных, мутагенных и т. п.; специфических побочных эффектов и противопоказаний, связанных

**Пьянова Лидия Георгиевна (Pyanova Lydia Georgievna)**, кандидат биологических наук, доцент, ст. научный сотрудник лаборатории синтеза функциональных углеродных материалов ФГБУН Института проблем переработки углеводородов Сибирского отделения Российской академии наук (ИППУ СО РАН), доцент кафедры химической технологии и биотехнологии ФГБУ ВО «Омский государственный технический университет» (ОмГТУ), 644040, г. Омск, Российская Федерация, medugli@ihcp.ru;

**Лихолобов Владимир Александрович (Likholobov Vladimir Aleksandrovich)** член-корреспондент РАН, доктор химических наук, профессор, научный руководитель ФГБУН Института проблем переработки углеводородов Сибирского отделения Российской академии наук (ИППУ СО РАН); заведующий кафедры химической технологии и биотехнологии ФГБУ ВО «Омский государственный технический университет» (ОмГТУ), 644040, г. Омск, Российская Федерация;

**Седанова Анна Викторовна (Sedanova Anna Viktorovna)**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории синтеза функциональных углеродных материалов ФГБУН Института проблем переработки углеводородов Сибирского отделения Российской академии наук (ИППУ СО РАН), 644040, г. Омск, Российская Федерация, medugli@ihcp.ru;

с особенностями свойств конкретных лекарств; лекарственной зависимости, синдрома отмены лекарственного средства.

Вопросы экологической безопасности лекарств и изделий рассматриваются при их изготовлении, транспортировании, хранении, переработке, потреблении и утилизации.

В Институте проблем переработки углеводородов СО РАН разработаны технологические подходы к целенаправленному синтезу пористых углерод-углеродных материалов нового класса на основе наноглобулярного дисперсного углерода (диаметр частиц 40-60 нм). Синтез основан на двухстадийном переходе углерода в нанодисперсные углеродные частицы и пироуглерод [1].

Представленные результаты исследований, свойства, разработанные в ИППУ СО РАН материалов на основе наноглобулярного углерода, подтверждают их безопасность и эффективность для задач медицины и ветеринарии.

**Материалы и методы исследования.** Углеродные сорбенты медицинского и ветеринарного назначения, разработанные в ИППУ СО РАН: гемосорбент углеродный стерильный в физиологическом растворе ВНИИТУ-1 (ТУ 9318-002-71069834-2004; регистрационный номер № ФСР 2008/03492 от 25.09.2012 г.); энтеросорбент углеродный Зоокарб (ТУ 9318-003-71069834-2006); энтеросорбент углеродный с полиаргинином (ТУ 9318-045-71069834-2014).

Стеновые медицинские испытания гемосорбента углеродного ВНИИТУ-1 и образцов сорбентов, модифицированных полиаргинином, проводились в Центральной научно-исследовательской лаборатории Омского государственного университета под руководством д.м.н., профессора Долгих Т.И.

При оценке биохимических показателей крови до и после контакта с гемосорбентом ВНИИТУ-1 исследовали плазму крови больных с распространенным перитонитом, находившихся в отделении гравитационной хирургии Городской клинической больницы скорой медицинской помощи, до и после сорбции. Плазму перфузировали с помощью аппарата УНИРОЛ-1 при скорости 15 мл/мин, соотношение плазма/сорбент = 10/1 и объеме колонки 5 см<sup>3</sup>. Стандартизированными методами определяли на автоматическом биохимическом анализаторе «Autolab» и спектрофотометра СФ-56А содержание веществ низкой и средней молекулярной массы, билирубина, креатинина, мочевины, аммиака, с использованием реактивов фирмы «Human» (Германия).

Концентрацию провоспалительных цитокинов и белка острой фазы в плазме крови больных пациентов определяли до и после ее контакта

с образцом сорбента. Уровень провоспалительных интерлейкинов определяли до и после проведения сорбции методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов Pro Con (Санкт-Петербург) на планшеточном фотометре Multiscan EX [2]. Количество иммуноглобулинов А, М, G определяли нефелометрическим методом.

Исследование по оценке эффективности энтеросорбента углеродного Зоокарб при хронической интоксикации соединениями тяжелых металлов проводили на животных (телята, поросята, цыплята) агропромышленных комплексов Омской области в производственных опытах. В испытаниях участвовали животные, у которых было установлено превышение допустимой концентрации таких токсичных элементов в сыворотке, как железо и цинк. По результатам фоновых биохимических исследований были сформированы соответствующие группы животных, которым ежедневно 2 раза в день в течение 10 суток вводили энтеросорбент Зоокарб в дозах 0,2 г/кг. По окончании опыта исследовали сыворотку крови на содержание токсичных элементов методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии.

Изучение адсорбционных свойств образца углеродного энтеросорбента Зоокарб, модифицированного полиаргинином, исследовали по отношению к цитокинам (интерлейкину 6 – ИЛ-6, интерлейкину 8, интерлейкин -1β, фактору некроза опухоли α). Испытания проводили с использованием плазмы крови лабораторных животных [2].

Проведена статистическая обработка результатов [3].

**Результаты и обсуждения.** К сорбентам медицинского и ветеринарного назначения, непосредственно контактирующим с биологической жидкостью организма, предъявляются особые требования к качеству: высокая степень химической чистоты, минимальное содержание примесей, нетоксичность, большая механическая прочность и гладкий рельеф поверхности гранул, отсутствие пылеобразования (выделения ультрадисперсных частиц), высокая сорбционная емкость по отношению к удаляемым веществам, биосовместимость и др.

Углеродные сорбенты, разработанные в ИППУ СО РАН, по своему внешнему виду представляют сферические гранулы черного цвета, преимущественно без запаха и вкуса, различающиеся по своему диаметру, в зависимости от области применения: для медицинского назначения преимущественный размер гранул диаметром 0,5-1,0 мм; для ветеринарии – 0,1 до 1,0 мм. Согласно полученным результатам физико-химических и медико-биологических иссле-

дований углеродных сорбентов разработаны технические условия [1].

Согласно проведенным медицинским испытаниям гемосорбент углеродный ВНИИТУ-1 применяется для детоксикации больных с эндотоксикозами, развивающимися при сепсисе, гнойных перитонитах, панкреатитах, ожоговой болезни, травмах, независимо от этиологии. Сорбент эффективен также при заболеваниях, сопровождающихся накоплением среднемолекулярных токсических веществ при острой и хронической печеночной и почечной недостаточности, в постреанимационном периоде, у онкологических больных, при лечении некоторых кожных и психоневрологических заболеваний, а также при экзотоксикозах, связанных с отравлением фосфорорганическими соединениями и барбитуратами.

В таблице 1 представлены результаты исследования влияния гемосорбента ВНИИТУ-1 на биохимические показатели плазмы крови больных с перитонитом.

Стендовые испытания показали, что углеродный сорбент достоверно снижал содержание веществ с низкой и средней молекулярной массой, креатинина и аммиака.

Энтеросорбент углеродный Зоокарб применяют крупному рогатому скоту, лошадям, свиньям, пушным зверям, собакам, кошкам и птицам при острых и хронических отравлениях, в том числе ядами растительного происхождения, пестицидами, соединениями тяжелых металлов, мышьяка, алюминия, недоброкачественными кормами, а также при

заболеваниях, сопровождающихся развитием эндогенного токсикоза, процессами брожения и гниения в кишечнике и при внутриутробной интоксикации.

В таблице 2 приведены результаты исследования по применению энтеросорбента Зоокарб при хронической интоксикации животных соединениями тяжелых металлов – цинка и железа.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что энтеросорбент углеродный Зоокарб является эффективным средством детоксикации организма животных при отравлении тяжелыми металлами.

Углеродные сорбенты являются перспективными материалами (носителями) для модифицирования с целью разработки и получения лекарственных средств как для медицины, так и для ветеринарии. Разработанные в ИППУ СО РАН методы химической функционализации поверхности углеродных сорбентов кислород- и азотсодержащими модификаторами позволяют получить широкий спектр эффективных сорбционных материалов для медицины, избирательно поглощающих патологические соединения белковой природы (провоспалительные цитокины, вирусные частицы гепатитов, продукты вирусов и бактерий и т.д.) (табл. 3) [1, 4, 5]. Повышение содержания на поверхности модифицированного сорбента азот- и кислородсодержащих функциональных групп влияет и на его адсорбционные свойства по отношению к токсичным соединениям, в том числе белковой природы.

Таблица 1

**Влияние гемосорбента углеродного ВНИИТУ-1 на биохимические показатели плазмы крови больных с перитонитом, (M±m)**

Исследуемый показатель	до сорбции	после контакта с сорбентом
Вещества низкой и средней молекулярной массы, усл. ед.	0,62±0,020	0,52±0,018*
Билирубин, мкмоль/л	30,4±1,33	29,1±1,22
Мочевина, моль/л	4,6±0,20	4,3±0,22
Креатинин, мкмоль/л	72,2±1,58	64,4±2,06*
Аммиак, мкмоль/л	22,3±0,58	13,9±0,25**

Примечание: соответствующие значения достоверно различаются

\*- при  $p < 0,01$ ; \*\*- при  $p < 0,001$

Таблица 2

**Содержание цинка и железа в сыворотке крови животных при введении Зоокарба в течение 10 суток, (M±m)**

Вид животных	Определяемый элемент	Содержание токсичных элементов в сыворотке крови, мг%	
		до курса энтеросорбции	после курса энтеросорбции
Телята	Цинк	1,45±0,04	0,28±0,03**
	Железо	1,2±0,19	0,41±0,07*
Поросята	Цинк	1,33±0,05	0,56±0,04**
	Железо	1,47±0,17	0,73±0,05*
Цыплята	Цинк	1,10±0,12	0,51±0,03*
	Железо	0,92±0,03	0,67±0,05**

Примечание: соответствующие значения достоверно различаются  
\* - при p <0,05; \*\* - при p <0,01

Таблица 3

**Разработанные в ИППУ СО РАН модифицированные углеродные сорбенты с биоспецифическими свойствами**

Носитель	Модифицирующий агент	Способ модифицирования	Биоспецифические свойства (наблюдаемая эффективность)
Углеродный гемосорбент ВНИИТУ-1	поли-N-винилпирродон	полимеризация	антибактериальные свойства (удаление токсинов, антибактериальное действие)
	аминокислоты	поликонденсация	иммунокорректирующие свойства (удаление провоспалительных цитокинов)
	гидроксикислоты	поликонденсация	антибактериальные и антимикотические свойства (удаление токсинов, антибактериальное и антимикотическое действие)
Фторированный углеродный гемосорбент ВНИИТУ-1	полиальбумин	иммобилизация	противовирусные свойства (удаление вирусных частиц гепатита В)

Носитель	Модифицирующий агент	Способ модифицирования	Биоспецифические свойства (наблюдаемая эффективность)
Энтеросорбент углеродный Зоокарб	аминокислоты	поликонденсация	иммунокорректирующие свойства (удаление провоспалительных цитокинов)
	бетулин	импрегнирование	иммунокорректирующие свойства, (связывание синтетических пиретроидов, удаление провоспалительных цитокинов)

Для ветеринарии наиболее перспективными представляют собой разработки углеродных энтеросорбентов комплексного действия, содержащие биологически активные вещества. На основе углеродного энтеросорбента Зоокарб были разработаны ветеринарные препараты: «Бетулин в углеродной микросфере» и энтеросорбент с полиаргинином (табл. 3). Действие таких препаратов позволяет проводить коррекцию различных патологий иммунной системы, обмена веществ желудочно-кишечного тракта, повысить естественную и специфическую резистентность организма, стимулировать рост и продуктивность животных и птиц. Для данных препаратов проведены физико-химические и фармакотоксикологические исследования,

доказана их эффективность в ветеринарной медицине при детоксикации животных после отравления и обработки дельтаметрином, Аверсектом-2, неостомозаном [6, 7].

В таблице 4 приведены результаты стендовых медицинских исследований по оценке эффективности образцов углеродного энтеросорбента, модифицированного полиаргинином. Изучены адсорбционные свойства образцов по отношению к провоспалительным цитокинам (интерлейкину 6, интерлейкину 8, фактору некроза опухоли).

Установлено, что модифицированные полиаргинином образцы энтеросорбента значительно снижают уровень провоспалительных цитокинов при экспериментальном перитони-

Таблица 4

**Адсорбционные свойства по отношению к белкам энтеросорбента углеродного Зоокарб, модифицированного полиаргинином, ( $M \pm m$ )**

Белки плазмы крови*	Уровень цитокинов в крови, пг/мл	
	до сорбции	после сорбции
Интерлейкин 6 М.М. 21000; pI 6,2	26,40±1,20 (11,20;39,9)	22,20±0,50** (5,68;27,2)
Интерлейкин 8 М.М. 8500; pI 9,9	3,10±0,20 (1,03;5,32)	0,95±0,06** (0,58;2,25)
Фактор некроза опухоли М.М. 26000; pI 5,3	2,25±0,75 (0,88;4,55)	1,2±0,03 (0,10;3,10)

Примечание: \*М.М. – молекулярная масса молекулы белка, г/моль; pI- изоэлектрическая точка белка; \*\* соответствующие значения достоверно различаются при  $p < 0,05$

те (в крови крыс). Более высокие адсорбционные свойства модифицированных образцов по отношению к цитокину – интерлейкину-8 объясняются структурой и молекулярной массой последнего, размерами пор сорбента. Можно предположить, что сорбция цитокинов протекает при взаимодействии функциональных групп модифицированного сорбента с поверхностными группами белка. Установлено, что исследуемые углеродные сорбенты не влияют на концентрацию иммуноглобулинов, что является

положительным моментом, так как они играют важную роль в иммунной защите.

**Заключение.** Проведенные многочисленные исследования разработанных сорбентов биоспецифического действия позволили установить и подтвердить их эффективность и безопасность. Данные разработки позволяют расширить спектр сорбционных материалов, используемых в медицинской и ветеринарной практике для профилактики и комплексного лечения целого ряда заболеваний.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Суrowикин В.Ф., Пьянова Л.Г., Лузянина Л.С. Новые гемо- и энтеросорбенты на основе нанодисперсных углерод-углеродных материалов. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.М. Менделеева). 2007; Т.11. №5: 159-165.  
2. Малахова М.Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации: пособие

для врачей. СПб.: ИАПО; 1995.  
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. М.: Практика; 1998.  
4. Пьянова Л.Г. Углеродные сорбенты в медицине и протеомике. Химия в интересах устойчивого развития. 2011; 19 (1): 113.  
5. Лихолобов В.А., Пьянова Л.Г.,

Бакланова О.Н., Седанова А.В. Модифицированные материалы на основе нанодисперсного углерода. Химия твердого топлива. 2014; 6: 57-66.  
6. P'yanova L.G., Gerunova L.K., Likholobov V.A., Sedanova A.V., Okolelov V.I., Lavrenov A.V. Development of carbon sorbents based on nanodispersed carbon using

biotechnology. Procedia Engineering, 2016; 152: 655-663.  
7. Пьянова Л.Г. Разработка и фармакотоксикологическая оценка модифицированных биологически активными веществами сорбентов ветеринарного назначения на основе нанодисперсного углерода: Автореф. Дис. канд. – Казань; 2016.

## REFERENCES:

1. Surovikin V.F., P'yanova L.G., Luzyanina L.S. New hemo- and enterosorbent based on the nanodisperses carbon-carbon materials. Ros. Khim. Zh. 2007; T.11. №5: 159-165 (in Russian).  
2. Malakhova M.Y. The method of registration of endogenous intoxication: guide for physicians. SPb: IAPO; 1995 (in Russian).

3. Glants S. Biomedical Statistics: translated from English. Moscow: Praktika; 1998 (in Russian).  
4. P'yanova L.G. Carbon Sorbents in Medicine and Proteomics. Chemistry for Sustainable Development. 2011; T.19. № 1: 113 (in Russian).  
5. Likholobov V.A., P'yanova L.G., Baklanova O.N., Sedanova A.V. Modified

materials based on nanodispersed carbon. Solid Fuel Chemistry. 2014; 48 : 382-391. DOI: 10.3103/S0361521914060020  
6. P'yanova L.G., Gerunova L.K., Likholobov V.A., Sedanova A.V., Okolelov V.I., Lavrenov A.V. Development of carbon sorbents based on nanodispersed carbon using biotechnology. Procedia Engineering,

2016; 152: 655-663. DOI: 10.1016/j.proeng.2016.07.670  
7. P'yanova L.G. Development and pharmaco-toxicological evaluation of modified sorbents biologically active substances for veterinary use based on nanodisperses carbon. Dr. biol. sci. diss. Kazan'; 2016 (in Russian).

L.G. P'yanova<sup>1,2</sup>, V.A. Likholobov<sup>1,2</sup>, A.V. Sedanova<sup>1</sup>.

## EFFETIVE AND SAFE MODIFIED CARBON SORBENTS BASED ON NANOGLOBULAR CARBON FOR MEDICAL AND VETERINARY PURPOSES

<sup>1</sup>Institute of Hydrocarbons Processing, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 644040, Omsk, Russian Federation

<sup>2</sup>Omsk State Technical University, 644050 Omsk, Russian Federation

At the Institute of Hydrocarbon Processing, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, technological approaches were developed to the targeted synthesis of porous carbon-carbon materials of a new class based on nanoglobular dispersed carbon (particle diameter 40-60 nm). Carbon materials for medical purposes are carbon hemosorbent in sterile saline VNIITU-1, carbon enterosorbent VNIITU-2, carbon enterosorbent Zookarb and modified materials derived from them that are safe and effective drugs for solving problems in medicine and veterinary. The article reports investigation results of effects posed by hemosorbent VNIITU-1 on blood plasma biochemical parameters in patients with peritonitis (substances with low and medium molecular weight, creatinine and ammonia). The results of the study on using enterosorbent Zookarb at chronic intoxication of animals with heavy metals – zinc and iron compounds are presented. The efficiency of samples of carbon hemosorbent and enterosorbent modified with polyarginine against pro-inflammatory cytokines (interleukin 6, interleukin 8) was assessed.

**Keywords:** Carbon sorbents, nanoglobular carbon, Institute of Hydrocarbons Processing, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, safety requirements for drugs, carbon hemosorbent in sterile saline solution VNIITU-, carbon enterosorbent Zookarb, composite veterinary drug «betulin in the carbon microsphere», carbon sorbent with polyarginine.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

УДК 534:615.9

# СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ РИСКА И ГИГИЕНИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЯ НАНОМАТЕРИАЛОВ В РОССИИ И ЕВРОСОЮЗЕ (НА ПРИМЕРЕ НОРВЕГИИ)

*А.В. Глушкова, А.С. Радиллов,  
С.А. Дулов, Н.С. Хлебникова*

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России) 188663, Ленинградская область, Российская Федерация

**П**одходы к оценке рисков при работе с наночастицами и наноматериалами как в странах Европейского Союза, так и в Российской Федерации, в принципе, аналогичны. Никаких специфических процедур при оценке риска при работе с наночастицами и наноматериалами не предусмотрено. Все подходы основаны на использовании тех же методов и приемов, как и для оценки веществ в микро- или макроформах (за исключением нановолокон). Однако в подходах стран к основам гигиенического регламентирования имеются определенные различия, которые подробно рассмотрены в представленной статье.

**Ключевые слова:** наночастицы, наноматериалы, оценка риска, гигиеническое нормирование, гигиеническое регламентирование, страны ЕС, РФ, гигиена, токсикология.

**Введение.** Как известно, в условиях антропогенной нагрузки на экосистемы наноматериалы воздействуют на организм человека не изолированно, а в сочетании с контаминантами объектов окружающей среды. Совокупное действие на организм разных по механизму действия вредных факторов, при разных путях их поступления, приводит либо к усилению токсического эффекта (синергизм), либо, напротив, к его ослаблению (антагонизм) [1]. Действенным инструментом исследования безопасности является анализ риска.

Методы оценки риска воздействия наночастиц и наноматериалов – один из ведущих инструментов экологического менеджмента в Европейском союзе (ЕС), основанный на серии ISO-стандартов и предназначенный для оценки эколого-экономических, социальных аспектов и воздействий на окружающую среду в системах производства продукции и утилизации отходов. Принципы, содержание, требования этапов проведения оцен-

ки рисков регламентируются стандартами ISO и регламентом ЕС REACH (Registration Evaluation Authorization of Chemicals/Регистрация, оценка, авторизация химических веществ) [2, 3].

REACH является регулирующим документом, используемым в ЕС в отношении безопасного обращения химических веществ, включая их оценку, регистрацию, авторизацию,

Норвегия, являясь членом Европейской экономической зоны, при проведении процедуры оценки риска наночастиц и наноматериалов принимает за основу регулирующие правила REACH, а также регламента ЕС CLP (Classification, Labelling and Packaging/Классификация, маркировка, упаковка), регламентирующего процесс классификации, маркировки и упаковки химических веществ.

На сегодняшний день правила REACH требуют обязательного упоминания о наночастицах (НЧ) на упаковке выпускаемой продукции, если таковые имеются в составе представлен-

**Глушкова Анжела Викторовна (Glushkova Anzhela Victorovna)**, кандидат медицинских наук, вед. специалист международного отдела ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (НИИ ГПЭЧ) ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, [angela\\_glushkova@yahoo.com](mailto:angela_glushkova@yahoo.com);

**Радиллов Андрей Станиславович (Radilov Andrey Stanislavovich)**, доктор медицинских наук, профессор, зам. директора по науке ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (НИИ ГПЭЧ) ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, [grech@fmbamail.ru](mailto:grech@fmbamail.ru);

**Дулов Сергей Анатольевич (Dulov Sergey Anatolievich)**, кандидат медицинских наук, зам. заведующего отделом токсикологии и гигиенического нормирования ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (НИИ ГПЭЧ) ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, [sergey\\_dulov@mail.ru](mailto:sergey_dulov@mail.ru);

**Хлебникова Наталия Семеновна (Khlebnikova natalia Semenovna)**, кандидат химических наук, зав. международным отделом ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (НИИ ГПЭЧ) ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, [grech@fmbamail.ru](mailto:grech@fmbamail.ru)

ной на рынке продукции, таким образом, привлекая участников рынка к социальной ответственности, а промышленность к управлению рисками.

Кроме того, как для персонала, так и для потребителей Европейское химическое агентство (ЕСНА) является основным регулирующим органом в обновлении и регулировании химического законодательства ЕС, ориентируясь на предупреждение и сохранение здоровья населения [3]. Для работы с НЧ также было создано отдельное подразделение в рамках Европейского химического агентства [10].

Норвежское агентство по защите окружающей среды (подчиняется Министерству климатических изменений и окружающей среды) является авторизованным подразделением REACH и несет ответственность за обеспечение соблюдения всех регламента REACH в Норвегии.

Для оценки содержания химических веществ в продуктах питания, в том числе НЧ и наноматериалов (НМ), в Норвегии под эгидой Научного комитета и Консультативного форума Европейского ведомства по безопасности пищевых продуктов была учреждена Научная сеть по оценке рисков, содержащихся в пищевых продуктах наночастиц и наноматериалов.

В свою очередь существующий в Норвегии Научный комитет по безопасности пищевых продуктов выполняет независимую оценку риска содержащихся в пищевых продуктах химических компонентов и веществ за частую по заказу Норвежского агентства по пищевой безопасности [4].

Норвежский институт гигиены труда (STAMI) и Норвежский институт общественного здоровья (NIOH), подчиняющиеся Министерству здравоохранения и социального развития, выполняют исследования по оценке безопасности наночастиц и наноматериалов, а также оказывают консультативные услуги по заказу государственных контролирующих органов, отвечающих за безопасность и охрану здоровья населения.

В Российской Федерации основным контролирующим органом является Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), одной из важных задач которого является оценка токсичности и опасности НЧ и НМ и утверждение гигиенических нормативов для НЧ и НМ в объектах среды обитания человека.

Ряд научно-исследовательских институтов, аккредитованных Роспотребнадзором, могут проводить исследования для определения токсических свойств химических веществ (в том числе НЧ и НМ) и разрабатывать гигиенические нормативы для них (в т.ч. НЧ и НМ). В этих случаях используются традиционные методы и приемы исследования с веществами в микро- или макроформе.

Что касается вопросов оценки риска, то, в принципе, данный процесс как в странах ЕС, так и в России практически идентичен и базируется на оценке эффектов, возникающих при воздействии той или иной дозы или концентрации. В обоих случаях, как в РФ, так и в странах ЕС, за основу принимаются приемы и методы для работы с веществами в микро- и макроформах при оценке их токсичных свойств, а также при оценке рисков. Что же касается регуляторной политики, то в России регуляторная политика осуществляется на уровне федерального законодательства, в странах Евросоюза данная деятельность осуществляется в рамках регламента ЕС REACH.

Впервые на уровне Европейского парламента заговорили о потенциальном влиянии НЧ и НМ на здоровье населения и окружающую среду в 2009 году. Данная тема была поднята именно на законодательном уровне в связи с бурно развивающимся рынком производства НЧ и НМ и отсутствием регулирующих нормативных документов.

В последние годы именно большинство исследований было сосредоточено на указанных моментах, пытаюсь сократить разрыв в уровне знаний. Кроме того, например, в России, были предприняты важные шаги с целью расширения знаний о токсических эффектах НЧ и НМ на здоровье населения и влиянии их на объекты окружающей среды.

Бурно развивающиеся технологии производства НЧ и НМ в последние годы, а также их применение в промышленности, медицине, науке и технике представляют по сути революционный прорыв с огромными потенциальными экономическими выгодами. Тем не менее, вопросы негативного влияния технологий, связанных с использованием и применением НЧ и НМ, до сих пор остаются еще не до конца изученными. Также остается открытым на сегодняшний день вопрос, касающийся подходов к оценке рисков при работе с НЧ и НМ, а также вопрос гигиенического нормирования НЧ в объектах среды обитания человека..

Оценка риска при работе с НЧ и НМ в странах ЕС (в том числе и в Норвегии) основана на принципах оценки и идентификации потенциальной опасности НЧ и НМ, а также на оценке экспозиции.

В странах ЕС потенциальный риск, как правило, рассчитывается на основе объединенных данных об опасности того или иного вещества, полученных в ходе экспериментальных исследований на животных с последующей экстраполяцией данных на человека. В настоящее время характеристика опасности основывается на результатах исследований, полученных на животных и клеточных культурах.



Несмотря на то, что НЧ имеют новые или улучшенные свойства по сравнению с их более крупными аналогами, на сегодняшний день не существует специального регулирования именно для НЧ или веществ в наноформе. За основу регулирования принимаются правила и требования регламентов REACH и CLP, которые регулируют содержание химических веществ в микро- и макроформах.

Требования и правила REACH являются основополагающими в процессе регулирования в отношении химических веществ и их безопасного использования в странах ЕС.

Требования REACH вступили в силу 1 июня 2007 года. Регламент REACH обеспечивает повышенную степень защиты здоровья населения и окружающей среды от рисков, которые могут быть связаны с химическими веществами, путем выявления опасных свойств химических веществ, а также дополнительно путем рекомендаций и указаний по безопасному обращению с химическими веществами [5].

Изначально требования REACH разрабатывались для улучшения защиты здоровья человека и окружающей среды, а также замены законодательной базы для химических веществ, используемых в ЕС до 2007 года. Начиная с 2007 года, требования REACH распространяются на все химические вещества, используемые как в промышленных целях, так и в быту, а не только на те химические вещества, которые используются в промышленных процессах [5].

Кроме того, REACH был разработан для повышения конкурентоспособности химической промышленности ЕС. Требования REACH приветствуют альтернативные методы оценки опасности веществ, с тем, чтобы уменьшить количество используемых в экспериментах животных [5].

Хотя на сегодняшний день нет никаких специфических требований к регулированию НЧ, предполагается, что должны использоваться подходы к регулированию и регламентированию НЧ в соответствии с требованиями REACH, используемыми для регулирования химических веществ в производственных условиях и окружающей среде [5].

Система регулирования CLP является частью глобальной системы регулирования и гармонизации, которая используется в странах Евросоюза.

Система CLP обязывает компании-производители надлежащим образом классифицировать, наносить маркировку и использовать специальную упаковку с указанием всех содержащихся веществ в продукте, размещенном на рынке.

Все вещества, в зависимости от степени выраженности оказываемых ими на организм челове-

ка канцерогенных, мутагенных и репродуктивных эффектов, делятся на вещества 1 и 2 класса, причем 1 класс подразделяется на 1А и 1В.

Для отнесения веществ к классу 1А обязательны данные по их влиянию на организм человека, для веществ класса 1В требуются убедительные данные об их влиянии на организм животных.

Что касается данных о НЧ и веществах в наноформах, то согласно требованиям REACH, информация о наноформе должна быть включена в Паспорт безопасности продукции [15].

Паспорт безопасности обычно должен содержать информацию о размере вещества в наноформе, если оно присутствует в продукте. Паспорта безопасности в целом содержат адекватную информацию о наноматериалах, содержащихся в продукте.

Следует отметить, что любой производитель или импортер химических веществ или НЧ и НМ в количестве одной тонны или более в год должен быть зарегистрирован в Европейском химическом агентстве. Каждый производитель или импортер готовит техническое досье, которое включает в себя полную информацию о химическом веществе, а также данные о химической безопасности представленного вещества.

В реестр Европейского химического агентства на сегодняшний день включено порядка 20-30 НЧ и НМ [15].

Норвежское агентство по охране окружающей среды несет ответственность за безопасность химических веществ, включая НЧ и НМ, находящихся в объектах окружающей среды, в пищевых продуктах и воздухе рабочей зоны.

Министерство по охране климата и окружающей среды отвечает за мониторинг содержания химических веществ в потребительских товарах и на объектах окружающей среды.

Также Министерство здравоохранения и социальной защиты играет определенную роль в оценке воздействия некоторых загрязнителей на здоровье населения.

На сегодняшний день в странах Евросоюза используются следующие нормативные документы – директивы ЕС по безопасности и гигиене труда на рабочих местах (Директива 89/391 ЕЕС (безопасность на рабочих местах и охране здоровья персонала), Директива 98/24/ЕС (риски, связанные с воздействием химических веществ на рабочих местах) и Директива 2004/37/ЕС (мутагенные и карциногенные эффекты).

Что касается НЧ, то к ним применяются эти же самые директивы, согласно которым одни НЧ могут быть признаны опасными, а другие – нет [10, 11, 12, 13, 14].

В соответствии с указанными директивами, Комиссия ЕС обязана установить предельные значения воздействия химических веществ

на рабочих местах и биологически предельные значения там, где это возможно. Работодатели обязаны оценивать риски, связанные с опасными химическими веществами и обеспечить проведение мероприятий для сведения к минимуму рисков, связанных с воздействием опасных химических веществ на здоровье населения.

В свою очередь норвежский институт гигиены труда выполняет исследования в области нанотоксикологии, нанобезопасности и гигиены труда на рабочих местах.

Норвежский институт гигиены труда играет ведущую роль по обновлению гигиенических регламентов и нормативных документов в соответствии с последними научными достижениями в области безопасности использования НЧ и НМ, а также по и вопросам безопасного обращения с НЧ и НМ как персонала, так и производителей.

Следует отметить, что на сегодняшний день в странах ЕС не существует официально утвержденных ПДК для веществ в наноформе [12, 13, 14].

В свою очередь использование нанотехнологий в пищевой промышленности контролируется Европейским Агентством по безопасности пищевых продуктов. В этом секторе экономики основной акцент направлен на контроль за пищевыми добавками и материалами, непосредственно контактирующими с пищевыми продуктами (например, упаковка, содержащая НЧ). В обязанности указанного Агентства также входит оценка риска и контроль за продовольственной безопасностью. Для обеспечения практического применения оценки рисков, связанных с использованием нанотехнологий в пищевой промышленности, Агентством по безопасности пищевых продуктов было опубликовано «Руководство по оценке риска при использовании нанотехнологий и наноматериалов в пищевой промышленности и пищевых цепях» (2011). Данное руководство обеспечивает практический подход к оценке потенциальных рисков, возникающих в связи с использованием нанотехнологий и наноматериалов в пищевой промышленности и пищевых цепях [15].

В Руководстве представлены данные, касающиеся требований к физико-химическим характеристикам используемых НЧ, а также подходы к идентификации и характеристике потенциальной опасности используемых НЧ в зависимости от их свойств.

Руководство распространяется на 2 вида ситуаций:

- имеется отсутствие экспозиции НЧ, но отсутствие миграции НЧ в окружающие среды (пищевые продукты) не подтверждены исследовательскими данными;

- полная деградация/разложение НЧ, при этом миграция в окружающие среды как таковая отсутствует.

В РФ используется традиционная система анализа риска, включающая четырехэтапный процесс оценки риска, управление риском и информирование о риске.

При рассмотрении вопроса о гигиеническом нормировании содержания химических веществ, в том числе НЧ, в Российской Федерации следует отметить, что головным регулирующим учреждением является Роспотребнадзор, одной из важных задач которого является оценка опасности НЧ и НМ и их гигиеническое регламентирование [15,17,20].

Роспотребнадзор придает большое значение соблюдению безопасности условий труда на объектах, которые работают с НЧ и НМ, и безопасности нанотехнологической продукции. На сегодняшний день в РФ создано более 50 методических документов, регламентирующих содержание НЧ и работу с НМ [17].

В отличие от стран Евросоюза в РФ разработаны ПДК для ряда НЧ.

Все учреждения, занимающиеся разработкой гигиенических стандартов химических веществ (в том числе и НЧ), должны быть аккредитованы в установленном порядке. На сегодняшний день специальной сертификации для работы с НЧ не требуется.

На сегодняшний день ряд государственных учреждений аккредитованы на выполнение исследовательских работ с НЧ с последующей разработкой гигиенических нормативов и утверждением их в органах Роспотребнадзора. Среди таковых можно отметить Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека (НИИ ГПЭЧ) (г. Санкт-Петербург), Институт питания Российской Академии Наук (г. Москва) и Государственный центр гигиены и эпидемиологии (г. Москва). Конечно же, список учреждений, не является исчерпывающим.

Также на российском рынке представлены и коммерческие организации, работающие в сфере обеспечения безопасности при работе с НЧ и НМ, например, РОСНАНОТЕХ. Данная корпорация как таковая не работает с НЧ и НМ, однако выдает экспертные заключения о безопасности нанотехнологической продукции в соответствии с проведенными исследованиями, специально аккредитованными для подобных исследований лабораториями и учреждениями [18].

Основной миссией РОСНАНО является коммерческая поддержка предприятий, работающих с нанотехнологической продукцией. Интересен тот факт, что, например, РОСНАНО подразделяет НЧ на 2 разные категории: наноо-

бъекты как таковые (например, НЧ TiO<sub>2</sub> в краске) и продукты нанопромышленности (например, автомобильные шины, покрытые углеродными нанотрубками).

РОСНАНО не выполняет каких-либо экспериментов и не выдает каких-либо рекомендаций в отношении стандартов содержания НЧ в воде, атмосферном воздухе, в воздухе рабочей зоны и иных объектах окружающей среды [19].

Тем не менее, РОСНАНО классифицирует все НЧ по степени опасности, базируясь на следующих 3 принципах:

- принцип безопасности НЧ (токсикологическая, экологическая, экотоксикологическая безопасность);
- техническое регулирование;
- санитарно-эпидемиологические требования.

**Заключение.** Таким образом, сравнительный анализ между российской и норвежской регуляторной политикой в области регламентирования безопасности НЧ и НМ в объектах окружающей среды показал, что принципы и подходы к гигиеническому регламентированию и оценке рисков в странах Евросоюза и в Российской Федерации аналогичны и основываются, в первую очередь, на взаимосвязи «доза-эффект», как и для химических веществ в целом. Что касается самой ре-

гуляторной политики, то одним из важных отличий является тот факт, что Роспотребнадзор выполняет регулирующую роль при утверждении нормативов при работе с различными химическими веществами, в том числе и НЧ в различных объектах окружающей среды. Это является преимуществом, давая согласованный и скоординированный подход в области регуляторной политики. Для сравнения, в ЕС в области регуляторной политики участвует большое количество министерств и ведомств, как на европейском международном уровне, так и на национальном.

Таким образом, оценка рисков и управление рисками для НЧ и НМ создают проблемы для регулирующих органов, промышленности, работников и потребителей как в ЕС (включая Норвегию), так и в Российской Федерации. Из-за отсутствия или слабых научных данных об опасности и способах экспозиции, это все еще представляет определенные затруднения для многих НЧ. Примечательно, что не существует каких-то специфических токсических эффектов, которые кажутся уникальными для НЧ. В настоящее время существующие методы оценки риска, применимы для НЧ, хотя по-прежнему существует необходимость их разработки именно для НЧ и НМ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

1. Анциферова И.В. Оценка рисков на протяжении жизненного цикла производства наноматериалов // Современные проблемы науки и образования. 2015; 2-1; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=20357> (дата обращения: 13.08.2016).
2. <https://osha.europa.eu/en/topics/riskassessment>
3. [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/jrc\\_report.pdf](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/jrc_report.pdf)
4. <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:040:EN:PDF>
5. [http://ec.europa.eu/growth/sectors/chemicals/reach/index\\_en.html](http://ec.europa.eu/growth/sectors/chemicals/reach/index_en.html)
6. [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/jrc\\_report.pdf](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/jrc_report.pdf)
7. <https://osha.europa.eu/en/legislation/directives>
8. <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-05-30-516>
9. <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2012-06-16-622?q=merking+klassifisering>
10. <https://osha.europa.eu/en/legislation/directives>
11. <https://osha.europa.eu/en/legislation/directives>
12. <https://osha.europa.eu/en/legislation/directives/the-osh-framework-directive>
13. <https://osha.europa.eu/en/legislation/directives/exposure-to-chemical-agents-and-chemicalsafety/osh-directives/75>
14. <https://osha.europa.eu/en/legislation/directives/exposure-to-chemical-agents-and-chemicalsafety/>
15. [http://ec.europa.eu/growth/sectors/chemicals/reach/nanomaterials/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/growth/sectors/chemicals/reach/nanomaterials/index_en.htm)
16. [http://web.ion.ru/GM\\_1/GM.asp](http://web.ion.ru/GM_1/GM.asp)
17. <http://fp.crc.ru/>
18. <http://www.rusnanonet.ru/products/list/>
19. <http://www.rusnanonet.ru/goods/>
20. <http://www.portalnano.ru/>

*A.V. Glushkova, A.S. Radilov, S.A. Dulov, N.S. Khlebnikova.*

## COMPARATIVE APPROACHES TO RISK ASSESSMENT AND HYGIENE REGULATION OF NANOMATERIALS IN RUSSIA AND IN THE EUROPEAN UNION (ON EXAMPLE OF NORWAY)

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663 Settlement Kuzmolovsky, , Leningrad Region, Russian Federation

Approaches to risk assessment when working with nanoparticles and nanomaterials in the European Union countries and the Russian Federation are in principle similar. No specific procedures for risk assessment are provided for working with nanoparticles and nanomaterials. All approaches are based on using the same methods and techniques as for assessment of substances in the micro or macro form (except nanofibers). However approaches to hygiene regulation differ to some extent from country to country. Those differences are examined in detail in the present article.

**Keywords:** nanoparticles, nanomaterials, risk assessment, hygiene regulation, hygiene standards, EU countries, the Russian Federation, hygiene, toxicology.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

УДК 615.9

# ПРИМЕНЕНИЕ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ НАНОМАТЕРИАЛОВ ПРИ ПОРАЖЕНИЯХ ВЫСОКОТОКСИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

А.В. Земляной<sup>1</sup>, С.Б. Оникиенко<sup>2</sup>,  
А.С. Радилон<sup>1</sup>, Г.А. Баранов<sup>3</sup>, В.В. Хухарев<sup>3</sup>,  
С.А. Дулов<sup>1</sup>, М.Б. Варлашова<sup>1</sup>, Н.В. Ерунова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФГБВОУВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны РФ, 194044, г. Санкт-Петербург Российская Федерация;

<sup>3</sup>АО «НИИ электрофизической аппаратуры им. Д.В. Ефремова», 196641, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Использование каталитических свойств реактивных углеродсодержащих наноматериалов, их композитных соединений с кварцем, оксидами металлов и кремния для нейтрализации и деструктивной сорбции высокотоксичных химических соединений может быть положено в основу создания новых средств защиты от поражений высокотоксичными химическими соединениями. Первые работы по исследованию влияния излучения мощного CO<sub>2</sub>-лазера ( $\lambda=10 \mu$ ) на строение и свойства шунгита проводились в АО «НИИЭФА им. Д.В. Ефремова». Поверхность обработанного лазерным излучением шунгита почти в 2 раза превышает поверхность природного шунгита, увеличивает его каталитическую активность. Элементный состав шунгитового материала не претерпевает значительных изменений после проведения лазерной обработки. Лазерная обработка шунгита повышает его способность очищать загрязненную воду от радикальных и ион-радикальных частиц, нейтрализуют токсические вещества в воде и воздухе. Активированные наночастицы шунгитового углерода обладают биоцидным действием, снижают гибель животных, увеличивают продолжительность жизни животных при накожной аппликации иприта.

**Ключевые слова:** лазер, шунгит, иприт.

**Введение.** Использование наноматериалов в фармакологии и токсикологии может существенно повысить целевой эффект лекарственных средств (ЛС) или токсических соединений, а также вызвать парадоксальные эффекты, которые могут кардинально изменить клиническую картину, течение и исход заболеваний и интоксикаций. Каталитические свойства реактивных углеродсодержащих наноматериалов, их композитных соединений с кварцем, оксидами ме-

таллов и кремния для нейтрализации и деструктивной сорбции высокотоксичных химических соединений могут быть использованы для создания новых средств защиты от поражений высокотоксичными химическими соединениями.

С этих позиций представляет интерес использование шунгита – природного углеродсодержащего минерала, в котором содержится до 20 % альфа-кварца, а также оксиды металлов, которые являются компонентами композитных реак-

**Земляной Александр Васильевич (Zemlyanov Alexander Vasilevich)**, кандидат медицинских наук, зав. лабораторией № 61 ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, al-zem@yandex.ru;

**Оникиенко Сергей Борисович (Onikienko Sergey Borisovich)**, кандидат медицинских наук, профессор кафедры военно-полевой терапии ФГБВОУ ВПО «ВМА им. С.М. Кирова» Минобороны РФ, 194044, Санкт-Петербург, Российская Федерация, onikisb@yandex.ru;

**Радилон Андрей Станиславович (Radilov Andrei Stanislavovich)**, доктор медицинских наук, профессор, зам. директора по науке ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (НИИ ГПЭЧ) ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, grech@fmba@mail.ru;

**Баранов Геннадий Алексеевич (Baranov Gennadiy Alexeyevich)**, доктор физико-математических наук, начальник центра АО «НИИ электрофизической аппаратуры им. Д.В. Ефремова» Минобороны РФ, 194044, Санкт-Петербург, Российская Федерация, gabanov@gmail.ru;

**Хухарев Владимир Валентинович (Khukharev Vladimir Valentinovich)**, кандидат физико-математических наук, ст. научный сотрудник АО «НИИ электрофизической аппаратуры им. Д.В. Ефремова» Минобороны РФ, 194044, Санкт-Петербург, Российская Федерация, vkhukharev@gmail.ru;

**Дулов Сергей Анатольевич (Dulov Sergey Anatolyevich)**, заместитель зав. отделом токсикологии и гигиенического нормирования ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (НИИ ГПЭЧ) ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, sergey\_dulov@mail.ru;

**Варлашова Марина Борисовна (Varlashova Marina Borisovna)**, кандидат медицинских наук, вед. научный сотрудник, ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (НИИ ГПЭЧ) ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, marinavarlashova@mail.ru;

**Ерунова Наталья Викторовна (Erunova Nataliya Viktorovna)**, кандидат медицинских наук, ст. научный сотрудник ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» (НИИ ГПЭЧ) ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация, patrunova@mail.ru

тивных углеродных наноматериалов с высокой каталитической активностью. В шунгитовом углероде фуллерены и нанотрубки находятся в форме прочных молекулярных комплексов и стабилизированы посредством донорно-акцепторных связей. Химическая активность шунгита снижается в результате агрегации наночастиц и повышается при их дезагрегации.

**Материалы и методы исследования.** Исследовали микроструктуру и элементный состав образцов методами сканирующей электронной микроскопии, рентгеноспектрального микроанализа и энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного анализа.

Для определения каталитических свойств шунгита измеряли изменение радикальных и ион-радикальных частиц в водопроводной воде с помощью люминолзависимой хемилюминесценции [2]. Моделировали загрязнение воды токсическими соединениями, добавляя в воду фенол и карбофос в концентрациях, превышающих ПДК в 100 раз: 0,1 мг/л и 5,0 мг/л, соответственно. Загрязнение воздуха моделировали путем пиролиза сигарет «Парламент». Производили сравнение изменения содержания радикальных и ион-радикальных веществ в водопроводной воде под влиянием активированного угля, неактивированного шунгита, водной суспензии шунгита, предварительного активированного в среде инертного газа и суспензии шунгита, активированного в водной среде. Контролем служила дистиллированная вода.

Содержание органических веществ в воде определяли по изменению перманганатной окисляемости по методу Кубеля [3]. Фенол и карбофос определяли с помощью газовой хроматографии, плазменно-ионизационный детектор [4, 5]. Анализ содержания электрофильных токсиантов в табачном дыме и на фильтрах сигарет, состоящих из последовательных слоев активированного угля и нейлона, осуществляли с помощью газовой хроматографии с использованием детектора электронного захвата [6]. В опытной серии сигарет активированный уголь в фильтре замещали на шунгитовый углерод, подвергнутый термохимической активации.

Исследовали активность шунгита в виде водной суспензии. В качестве тест-микроорганизма по определению биоцидных (дезинфицирующих) свойств химических веществ и физических факторов выбрана кишечная палочка *E. coli* (шт. 1257) со стандартной устойчивостью к фенолу, хлорамину и нагреванию на водяной бане, используемая в экспериментальных работах.

После экспозиции 0,5 мл жидкости из каждой пробирки, включая контрольные, переносили в чашку Петри со средой Эндо и равномерно рас-

пределяли по всей поверхности стерильным микробиологическим шпателем. Затем чашки помещали в термостат и экспонировали в течение 1 суток при температуре 37 °С. Проводили учет результатов методом сравнения количества колоний, выросших на каждой опытной чашке, с количеством колоний в чашках с посевами из контрольных пробирок.

Оценка защитной эффективности активированных наночастиц шунгитового углерода была проведена на модели тяжелого кожно-резорбтивного поражения ипритом у крыс (доза 30 мг/кг). На выстриженный участок кожи наносили капли иприта массой 0,5 мг на расстоянии 1,5 см друг от друга, чтобы не происходило слияния капель при растекании их по коже. Дегазацию иприта по защитному слою рецептуры «Ланглик» проводили через 15 минут после его аппликации тампоном, пропитанным рецептурой ИПП-11 (норма расхода – 4 г/дм<sup>2</sup>).

Критериями защитной эффективности рецептур в опытах на животных служили: выживаемость, средняя продолжительность жизни животных и сроки заживления ипритных поражений кожи.

**Результаты и их обсуждение.** Подготовленный шунгитовый порошок подавали в реакционную камеру с потоком гелия через целевое сопло. Для оптимального взаимодействия газопорошковой смеси с лазерным излучением щель сопла была ориентирована по оси луча лазера. Плотность мощности луча по диаметру была распределена по Гауссу и на площади диаметром 2 мм имела 80 % с абсолютной величиной 2,5 кВт. Обработанную лазерным излучением газопорошковую смесь подавали в электростатический фильтр, на стенках которого и осаждался продукт обработки.

Рентгенофазовый анализ подготовленных порошкообразных образцов шунгита (облученного и не облученного лазерным излучением) представлен на рисунке 1.

На дифрактограммах фиксировались только пики кварца. Так как основной пик графита ( $d=3,347\text{\AA}$ ) перекрывается с основным пиком кварца ( $d=3,3454\text{\AA}$ ), то возможно присутствие в образцах небольшого количества графита. Отличия в дифрактограммах природного шунгита и шунгита, обработанного лазерным излучением, не обнаружено, что свидетельствует о незначительном влиянии воздействия лазерного излучения мощностью до 3 кВт на фазовый состав основных фаз шунгитового порошка.

Измерения удельной поверхности показали, что поверхность обработанного лазерным излучением шунгита почти в 2 раза превышает поверхность природного шунгита (соответственно  $18,4\pm 1,1$  и  $10,5\pm 0,06$  м<sup>2</sup>·г<sup>-1</sup>).

На рисунке 2 представлены микрофотографии исходного шунгитового порошка, на которых видны крупные зерна кварца и сульфида железа, вся поверхность которых покрыта мелкими кристаллами (рис. 2.1). На микрофотографиях шунгитового порошка, обработанного лазерным излучением, крупных зерен не наблюдали, видна только плотноупакованная мелкодисперсная фракция кристаллитов (рис. 2.2). По всей вероятности, разрушение крупных зерен в результате воздействия лазерным излучением и является причиной двукратного увеличения удельной поверхности шунгитового порошка.

Проводили определение химического состава образцов исходного и обработанного лазерным излучением шунгитового порошка методом энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного анализа. В таблице 1 приведен состав исходного шунгитового порошка и порошка, обработанного лазерным излучением. На основании полученных данных можно заключить, что элементный состав шунгитового материала не претерпевает значительных изменений после проведения лазерной обработки.

С помощью лазерной обработки шунгита получены стабильные суспензии с углеродными наноструктурами, обладающими высокой реактивностью. Установлено, что наночастицы в водном коллоиде шунгитового углерода более активны по сравнению с фуллеренами.

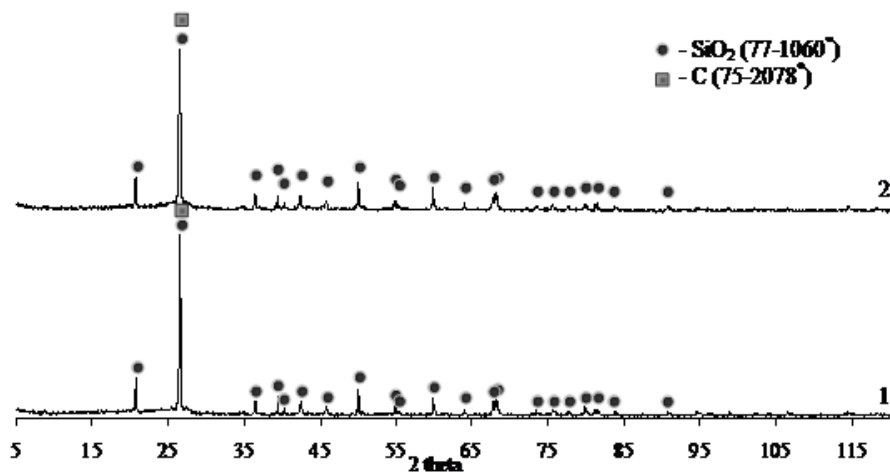


Рис. 1 - Рентгеновские дифрактограммы: 1 - исходный материал, 2 - материал, обработанный лазерным излучением

В результате проведенных экспериментальных исследований установлено, что каталитическая активность реактивных наноструктур шунгитового углерода в жидкой среде усиливается при их обработке лазером. Термохимическая лазерная активация углеродных наноматериалов шунгита как в жидкой среде, так и в среде инертного газа, повышала их способность очищать хлорированную водопроводную воду от радикальных и ион-радикальных частиц (в 76 и 113 раз, соответственно), по данным люминол-зависимой хемилюминисценции (рис. 3). Образцы активированного шунгита нейтрализуют токсические вещества (фторорганические соединения и хлорированные ароматические углеводороды) в модельных водных системах (рис. 4).

Установлено усиление каталитической активности шунгитового углерода после лазерной обработки на примере нейтрализации

Таблица 1

**Энергодисперсионный рентгенофлуоресцентный анализ порошка шунгита до и после обработки лазерным излучением**

Химический элемент	Количество, мас %	
	до обработки	после обработки
Si	80,92	80,83
Al	7,16	7,87
S	1,61	1,30
K	8,87	8,66
Fe	0,16	0,13
Ti	1,28	1,22

токсических веществ, содержащихся в табачном дыме. Токсичные вещества определялись в основном на нейлоновом фильтре и в умеренном количестве на шунгитовом. На выходе из фильтра их идентифицировали в следовых количествах. Содержание электрофильных соединений в табачном дыме было почти на 3 порядка ниже при использовании активированного шунгитового угля в сравнении с активированным углем. При использовании активированного шунгита наибольшее количество электрофильных токсикантов задерживалось на нейлоновом фильтре и, наоборот, сорбировалось на активированном угле при его применении вместо шунгита (рис. 5). Вероятно, это обусловлено тем, что активированный шунгитовый уголь вызывает рекомбинацию низкомолекулярных электрофильных соединений и свободных радикалов с последующим образованием веществ с большей массой молекул, которые задерживает нейлоновый фильтр.

Полученные результаты свидетельствуют о значительном увеличении каталитической активности шунгита после его активации обработкой лазерным излучением.

Результаты экспериментов по оценке биоцидного действия исследуемых образцов в жидкой фазе (водная взвесь образцов, содержащая микроорганизмы) представлены в таблице 2. Контролем служили пробирки с микробной взвесью, не содержавшие исследуемых образцов.

При применении шунгита, обработанного лазером, снижение концентрации микробных клеток по сравнению с контролем произошло в среднем в 470 раз.

Результаты оценки защитной эффективности рецептов, содержащих активированные на-

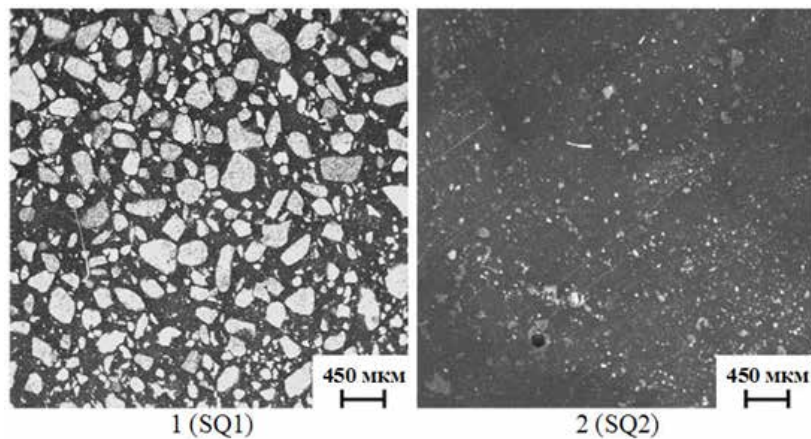


Рис. 2. Микрофотографии шунгитового порошка до (1) и после (2) обработки лазерным излучением (аншлиф, режим фазового контраста)

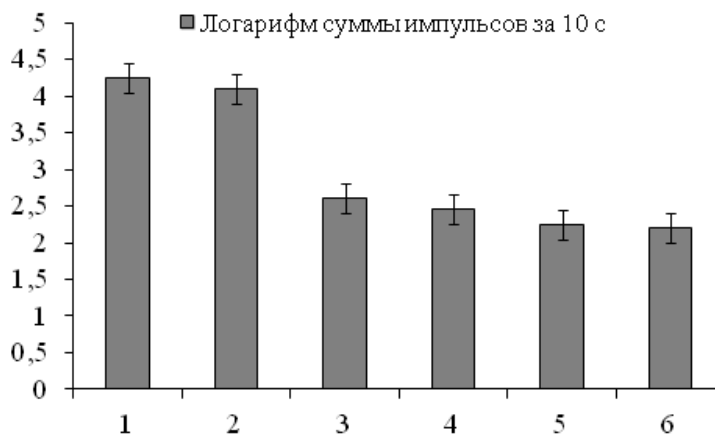


Рис. 3 - Влияние термохимической активации шунгитового угля на содержание радикальных и ион-радикальных частиц в водопроводной воде: 1 - водопроводная вода, 2 - водопроводная вода, очищенная активированным углем, 3 - водопроводная вода, очищенная немодифицированным шунгитом, 4 - водопроводная вода, очищенная шунгитом, активированным в жидкой среде; 5 - водопроводная вода, очищенная шунгитом, активированным в среде инертного газа; 6 - дистиллированная вода

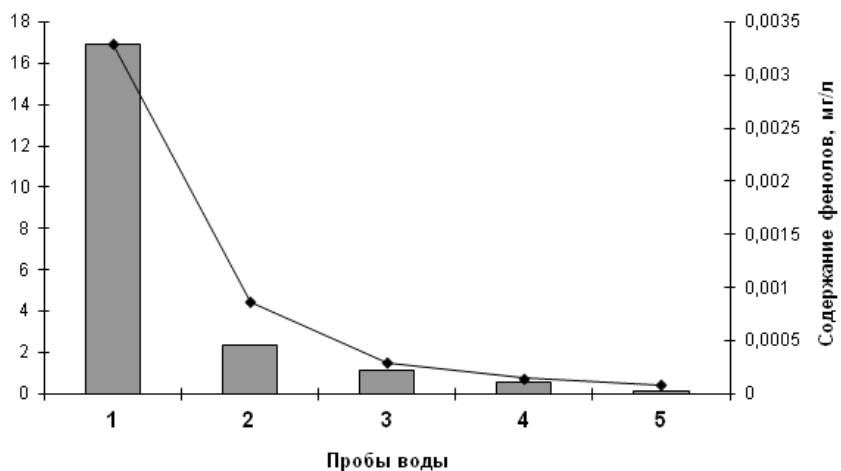


Рис. 4 - Влияние лазерной активации шунгитового угля на перманганатную окисляемость и содержание фенолов в воде: 1 - водопроводная вода, 2 - водопроводная вода, очищенная активированным углем, 3 - водопроводная вода, очищенная немодифицированным шунгитом, 4 - вода, очищенная шунгитом, подвергнутой лазерной активации в жидкой среде, 5 - вода, очищенная шунгитом, активированным лазером в среде инертного газа

Таблица 2

**Количество микроорганизмов, выросших на плотной питательной среде (КОЕ/см<sup>2</sup>) после обработки их реактивными наночастицами шунгитового углерода в физиологическом растворе, на модели E. coli в различных концентрациях при экспозиции 1 час**

Показатели	КОЕ/см <sup>2</sup> в образцах			
	Шунгит, модифицированный лазером	Шунгит немодифицированный	Фуллереновая сажа	Контроль
Средний показатель (опыты №№ 2-5), КОЕ/см <sup>2</sup>	0,15	2,83	24,00	70,44
Показатель снижения концентрации микробной взвеси по сравнению с исходной, абс. числа	469,4	24,89	2,94	-

Таблица 3

**Защитная эффективность рецептур, содержащих активированные наночастицы шунгитового углерода (расход 0,25 г/дм<sup>2</sup>, экспозиция – 1 ч), при аппликации иприта на кожу крыс (n=10) (доза иприта – 30 мг/кг)**

Вещество	Количество выживших крыс	Средняя продолжительность жизни, ч	Срок заживления кожных поражений, сут
Активированные наночастицы шунгитового углерода	5	98±1,5	40±1,3
ИПП-11	10	98±5,6	38±1,8

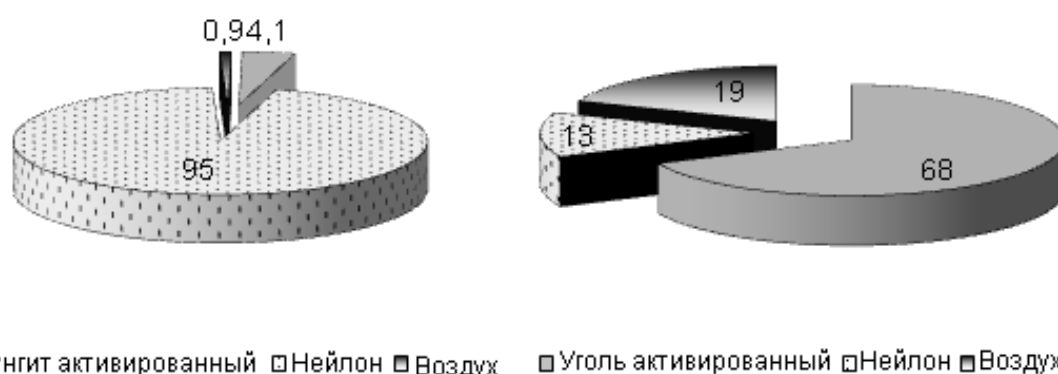


Рис. 5. - Относительное содержание электрофильных соединений на различных частях фильтра, %



ночастицы шунгитового углерода, при накожной аппликации иприта крысам, представлены в таблице 3.

Контролем служила группа животных, защищенная рецептурой ИПП-11. При накожном использовании активированных наночастиц шунгитового углерода выжило 50 % крыс, срок заживления кожных поражений достоверно не отличался от данного показателя в группе животных при использовании табельной рецептуры ИПП-11. Средняя продолжительность жизни погибших животных составила  $98 \pm 1,5$  ч, как и у рецептуры ИПП-11.

При оценке течения ипритных поражений у крыс был отмечен точечный характер очагов поражения при применении активированных

наночастиц шунгитового углерода. При использовании рецептуры ИПП-11 у крыс на коже наблюдали сливные поражения.

**Заключение.** Лазерная активация шунгита – это перспективный путь повышения эффективности его использования для очистки воды и воздуха, защиты от токсических поражений при эколого-профессиональных воздействиях и авариях на предприятиях химической промышленности, объектах по хранению и уничтожению химического оружия, а также при возможных диверсионных (террористических) актах. Определение оптимальных параметров лазерной обработки является перспективным подходом при создании новых средств защиты от высокотоксических химических соединений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов Г.А., Астахов А.В., Зинченко А.К. Мощные технологические CO<sub>2</sub>-лазеры на основе поперечного самостоятельного разряда. СПб: Политехн. ун-т, 2005; 236.

2. Aristova N.A., Ivanova I.P., Trofimova S.V., Knyazev D.I., Piskarev I.M. Influence of Luminol on the Chemiluminescence

Intensity in Fenton's Reaction // High Energy Chemistry, 2011, 45(6):505 – 509.

3. ГОСТ Р 55684-2013. ИСО 8467:1993 Вода питьевая. Метод определения перманганатной окисляемости. – М.: Стандартинформ, 2014; 27.

4. МУК 4.1.752-99 Газохроматографическое определение фенола в воде. – Утв.

Первым зам. Мин. здравоохран. РФ – Гл. гос. сан. врачом РФ 10.04.1999 г.

5. РД 52.24.411-2009. Массовая концентрация паратион-метила, карбофоса, диметоата, фозалона в водах. Методика выполнения измерений газохроматографическим методом. Ростов-на-Дону, 2009.

6. de Kok A., Rijnierse E., Amoureux M., Geerdink R.B., Brinkman U.A. Gas and liquid chromatography of hydroxybiphenyls, chlorinated hydroxybiphenyls and several types of halogenated derivatives. I. Capillary gas chromatography and mass spectrometry // Int. J. Environ Anal. Chem., 1987, 29 (3): 227 - 247.

## REFERENCES:

1. 1. Baranov G.A., Astahov A.V., Zinchenko A.K. Powerful technological CO<sub>2</sub>-lasers on the basis of the cross independent category. SPb: Politekhn. un-t, 2005; 236 (in Russian)

2. 2. Aristova N.A., Ivanova I.P., Trofimova S.V., Knyazev D.I., Piskarev I.M. Influence of Luminol on the Chemiluminescence

Intensity in Fenton's Reaction // High Energy Chemistry, 2011, 45(6): 505 – 509.

3. 3. GOST P 55684-2013. ISO 8467:1993 Drinking water. Method of determination of permanganatny oxidability. – M.: Standartinform, 2014; 27 (in Russian).

4. 4. MR 4.1.752-99 Gazokhromatografichesky definition of phenol in water. – by First deputy Min.

health. The Russian Federation – Hl. state. dignity. doctor of the Russian Federation 4/10/1999 (in Russian).

5. 5. RD 52.24.411-2009. Mass concentration paration-marked, a karbofosa, a dimetoata, a fozalona in waters. Technique of performance of measurements by a gazokhromatografichesky method. Rostov-

on-Don, 2009 (in Russian).

6. 6. de Kok A., Rijnierse E., Amoureux M., Geerdink R.B., Brinkman U.A. Gas and liquid chromatography of hydroxybiphenyls, chlorinated hydroxybiphenyls and several types of halogenated derivatives. I. Capillary gas chromatography and mass spectrometry // Int. J. Environ Anal. Chem., 1987, 29 (3): 227 - 247.

*A.V. Zemlyanoy<sup>1</sup>, S.B. Onikienko<sup>2</sup>, A.S. Radilov<sup>1</sup>, G.A. Baranov<sup>3</sup>, V.V. Khukharev<sup>3</sup>, S.A. Dulov<sup>1</sup>, M.B. Varlashova<sup>1</sup>, N.V. Erunova<sup>1</sup>.*

## THE USE OF CARBONACEOUS NANOMATERIALS IN CASE OF LESIONS CAUSED BY HIGHLY TOXIC CHEMICAL COMPOUNDS

<sup>1</sup> Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663, Leningrad region.

<sup>2</sup> S.M. Kirov Military Medical Academy, 194044, St. Petersburg

<sup>3</sup> D.V. Efremov Scientific Research Institute of Electrophysical Apparatus, 196641, St. Petersburg;

The use of catalytic properties of reactive carbonaceous nanomaterials, their composite compounds with quartz, metal oxides and silicon for neutralization and destructive adsorption of highly toxic chemical compounds can serve as a basis to create new means of protection from highly toxic chemical lesions. The first studies on the impact of high-power CO<sub>2</sub> laser ( $\lambda = 10 \mu$ ) radiation on the structure and properties of shungite were performed at D.V. Efremov Institute of Electrophysical Apparatus. The surface of the laser-treated shungite is almost 2-fold larger than the surface of natural shungite and increases its catalytic activity. The elemental composition of shungite material does not undergo significant changes after laser treatment. The laser treatment of shungite improves its ability to clean polluted water from radical and ion-radical particles, neutralizes toxic substances in water and air. Activated shungite carbon nanoparticles have a biocidal effect, reduce animal deaths and increase animal lifespan in case of cutaneous application of mustard agent.

**Keywords:** laser, shungite, mustard agent.

УДК 613.633, 331.471

# ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ЭКСПОЗИЦИЙ И МЕДИКО- БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК: ОБЗОР СЕРИИ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Л.М. Фатхутдинова<sup>1</sup>,  
Т.О. Халиуллин<sup>1,2</sup>, Р.Р. Залялов<sup>1</sup>,  
Е.Р. Кисин<sup>2</sup>, А.А.З Шведова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Казанский государственный  
медицинский университет»

Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, 420012,  
г. Казань, Российская Федерация

<sup>2</sup>Национальный институт охраны  
и медицины труда, WV 26505,  
г. Моргантаун, США

**И**зучение поведения наночастиц в живых системах и степени безопасности новых наноматериалов путем опережающих научных исследований является одной из стратегических задач развития нанотехнологической сети. Актуальность проблемы обусловлена отсутствием достаточной информации об особенностях поведения искусственных наночастиц в живых системах, включая человека. Углеродсодержащие материалы занимают одно из ведущих мест на рынке наноматериалов. Количество предприятий, на которых производятся или применяются углеродные нанотрубки (УНТ) и другие типы углеродных наноматериалов, растет из года в год. Установление молекулярно-клеточных механизмов биологического и токсического действия УНТ при взаимодействии с различными биологическими объектами и организмом человека необходимо для последующей разработки подходов к техническому регулированию содержания наночастиц в различных объектах и предупреждению повреждающего действия на организм человека. В 2009-2015 гг. реализовывался протокол совместного российско-американского исследования по оценке экспозиции и риска здоровью от воздействия многостенных углеродных нанотрубок CNT-ERA (Carbon NanoTubes Exposure and Risk Assessment) – одно из первых в мире исследований по изучению риска здоровью человека, связанного с ингаляционным воздействием промышленных МУНТ. Исследование включало в себя гигиенический, токсикологический и эпидемиологический этапы. Концентрации респираторной фракции аэрозоля в зоне дыхания работника, усредненные за 8-часовой период, находились в диапазоне от 0,54 до 6,11 мкг/м<sup>3</sup> (в пересчете на элементный углерод). Обнаружен профибротический потенциал нативных промышленных МУНТ, а также потенциально повышенный риск развития легочных и сердечно-сосудистых заболеваний и злокачественных новообразований легких. Установлена необходимость пересмотра отечественных подходов к методам оценки экспозиций и нормированию УНТ в воздухе рабочей зоны, организации системы профилактических мероприятий и медицинского обслуживания работников.

**Ключевые слова:** многостенные углеродные нанотрубки, фиброгенные эффекты, канцерогенный риск, исследования *in vitro* и *in vivo*, эпидемиологическое исследование, биомаркеры, экспрессия генов.

**Введение.** Изучение поведения наночастиц в живых системах и степени безопасности новых наноматериалов путем опережающих на-

учных исследований является одной из стратегических задач развития нанотехнологической сети. Потенциальными группами риска явля-

**Фатхутдинова Лилия Минвагизовна (Fatkhutdinova Liliya Minvagizovna)**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гигиены, медицины труда ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, 420012, Казань, Российская Федерация, liliya.fatkhutdinova@gmail.com

**Халиуллин Тимур Оскарович (Khaliullin Timur Oskarovich)**, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, 420012, Казань, РФ, Национальный институт охраны и медицины труда, WV 26505, Моргантаун, США;

**Залялов Рамиль Равилович (Zalyalov Ramil Ravilovich)**, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, 420012, Казань, Российская Федерация;

**Кисин Елена Рафаиловна (Kisin Elena Rafailovna)**, Национальный институт охраны и медицины труда, WV 26505, Моргантаун, США;

Шведова Анна Александровна (Shvedova Anna Alexandrovna), Национальный институт охраны и медицины труда, WV 26505, Моргантаун, США

ются работники, занятые при производстве и применении нанопродукции, потребители лекарственных форм, использующих соответствующие средства адресной доставки, население, использующее нанопродукцию или подвергающееся воздействию наночастиц при загрязнении объектов окружающей среды. Актуальность проблемы обусловлена отсутствием достаточной информации об особенностях поведения искусственных наночастиц в живых системах, включая человека. Высокая проникающая способность и реактогенность позволяют предположить наличие угроз для здоровья человека и окружающей среды. Приоритет в исследованиях следует отдавать углеродсодержащим наноматериалам (углеродные нанотрубки, графен, фуллерены), металлическим наночастицам, наночастицам диоксида кремния, наноцеллюлозе, полимерным наноматериалам, что обусловлено их лидирующим положением на рынке, морфологическим и структурным разнообразием, необходимостью сравнения поведения и биологических эффектов различных модификаций одного и того же типа наночастиц для поиска и отбора наименее токсичных вариантов. При этом классические подходы не позволяют успешно решать новые задачи. Требуется переход на новый технологический уровень с использованием последних достижений физико-химических наук, оптики, молекулярной и клеточной биологии, необходимы интенсивные междисциплинарные исследования и международная кооперация. Необходим переход от экспериментальных работ, использующих очищенные лабораторные образцы, к исследованиям, изучающим нативные промышленно произведенные наночастицы. Дозы, использовавшиеся для экспериментов *in vivo* и *in vitro*, не обосновывались данными по реальным экспозициям, так как исследователи не имели достаточной информации о содержании наночастиц в различных объектах окружающей среды. Неизвестным остается эффект низких доз, а также процессы, предшествующие развитию патологических состояний, вероятность которых показана в опытах на лабораторных животных. Данные о медико-биологическом действии наночастиц на человека крайне ограничены, что затрудняет продвижение новых материалов на рынок.

Углеродсодержащие материалы занимают одно из ведущих мест на рынке наноматериалов. Количество предприятий, на которых производятся или применяются углеродные нанотрубки (УНТ) и другие типы углеродных наноматериалов, растет из года в год [1]. Установление молекулярно-клеточных механиз-

мов биологического и токсического действия УНТ при взаимодействии с различными биологическими объектами и организмом человека необходимо для последующей разработки подходов к техническому регулированию содержания наночастиц в различных объектах и предупреждению повреждающего действия на организм человека. В 2009-2015 гг. реализовывался протокол совместного российско-американского исследования по оценке экспозиции и риска здоровью от воздействия многостенных углеродных нанотрубок CNT-ERA (Carbon NanoTubes Exposure and Risk Assessment) – одно из первых в мире исследований по изучению риска здоровью человека, связанного с ингаляционным воздействием промышленных МУНТ. Исследование включало в себя гигиенический, токсикологический и эпидемиологический этапы. Задачи проекта были определены следующим образом: 1) характеристика возможных экспозиционных сценариев, включая математическое моделирование поступления, распределения и депонирования различных наночастиц в дыхательных путях человека, 2) поиск информативных биомаркеров в ходе экспериментов *in vitro* и *in vivo*, 3) изучение и оценка степени риска здоровью в ходе эпидемиологического исследования, 4) разработка подходов для технического регулирования содержания МУНТ в воздухе рабочей зоны, 5) разработка подходов для предупреждения повреждающего действия МУНТ на организм работников.

**Характеристика экспозиций к МУНТ на рабочих местах.** Задача количественной оценки содержания УНТ в воздухе может быть решена различными способами. Определение массовой концентрации УНТ по содержанию сопутствующих металлов-катализаторов является непрямым методом [2]. Однако концентрации металлов-катализаторов, встроенных в УНТ, могут оказаться очень незначительными для количественного определения; кроме того, на содержание металлов могут существенно повлиять внешние загрязнения [3, 4]. Также необходимо отметить тот факт, что количественные зависимости между содержанием металлов и массой УНТ могут быть очень переменными. Напрямую определять содержание элементного углерода, из которого состоят УНТ, в образце, отобранном из воздуха рабочей зоны, позволяет термооптический анализ [5]. Для дополнительной характеристики производственных экспозиций применялись также просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) и некоторые другие методы (например, прямая инструментальная оценка наночастиц) [6]. Кроме того, российскими ис-

следователями был предложен прямой подсчет отдельных нанотрубок, отобранных в жидкую среду (дистиллированную воду) [7].

Характеристика фактических экспозиций имеет большое значение для планирования токсикологических экспериментов, в том числе предназначенных для обоснования предельно допустимых уровней воздействия. Сотрудниками Казанского медицинского университета в сотрудничестве с исследовательской группой из Национального института охраны и медицины труда (НИОМТ США) были изучены уровни МУНТ в воздухе рабочих мест российского предприятия-производителя [8]. Исследование проводили на предприятии, использующем для синтеза МУНТ реактор каталитического пиролиза углеводородов. Отбор проб воздуха проводили в зоне дыхания работника синхронно на фильтры из смешанных эфиров целлюлозы (СЭЦ-фильтры) диаметром 37 мм с диаметром пор 0,8 мкм (для ПЭМ) и высокочистые кварцевые фильтры диаметром 25 мм (для термооптического анализа).

Концентрации респираторной фракции аэрозоля в зоне дыхания работника, усредненные за 8-часовой период, находились в диапазоне от 0,54 до 6,11 мкг/м<sup>3</sup> (в пересчете на элементный углерод) на всех этапах производственного процесса, кроме рабочих мест в лаборатории, превышали рекомендованный НИОМТ США уровень в 1 мкг/м<sup>3</sup>. Кроме того, частицы МУНТ обнаруживались в воздухе рабочих помещений даже в нерабочее время, при выключенном оборудовании. В воздухе МУНТ присутствовали в виде агломератов размерами от 1 до 10 мкм. Наибольшие значения содержания элементного углерода в воздухе рабочей зоны, как и предполагалось, были выявлены в ходе процесса ручного сбора продукта из реактора, в то время как лабораторная работа сопровождалась наименьшими массовыми значениями содержания аэрозоля МУНТ. Полученные данные согласуются с измерениями, выполненными на разных предприятиях двумя другими международными группами (из США и Швеции) с применением аналогичных методологических подходов (ПЭМ-метод в сочетании с термооптическим анализом) [9, 10].

Изучение комплекса факторов рабочей среды и трудового процесса на современных инновационных предприятиях – производителях наноматериалов с помощью традиционных методов гигиенической оценки показало, что условия труда на могут быть оценены как безвредные и безопасные [11]. В соответствии с методикой Европейского агентства по охра-

не труда, на предприятии идентифицирован ряд опасностей, для которых риск был оценен как умеренный, но приемлемый: сосуды под давлением; электрооборудование; открытый огонь; взрывы; вредные химические вещества и пыль. Индекс ELMERI на предприятии составил 88,5 %. В отраслях с высоким уровнем травматизма (механообработка, металлургия) значения индекса варьируются в диапазоне 52-80 % и тесно коррелируют с числом случаев производственного травматизма [12]. Таким образом, результаты свидетельствуют о высоком уровне безопасности на исследуемом предприятии. В то же время, исследование специальных методов исследования позволяет выявить новые факторы риска здоровью работников (искусственные наночастицы в воздухе рабочей зоны). Последнее обстоятельство обуславливает необходимость изменения традиционных подходов с учетом специфики инновационных производств. Современные инновационные производства требуют особого подхода к оценке условий труда и профессиональных рисков. Существующая нормативно-методическая база и инструменты (как отечественные, так и зарубежные) зачастую не позволяют выявить риски здоровью и оценить их количественные характеристики.

В ходе исследований было установлено, что рекомендованный МР 1.2.2639-10 подсчет количества индивидуальных МУНТ, отобранных из воздуха на дистиллированную воду, не применим, так как МУНТ присутствовали в воздухе в виде агломератов размером 0,5-10 мкм [7]. Проведенные исследования свидетельствуют о необходимости пересмотра отечественных подходов к методам оценки экспозиций и нормированию УНТ в объектах окружающей среды. Нами предлагается пересмотреть временный допустимый уровень УНТ в воздухе рабочей зоны и выразить его в весовых единицах, соответствующих содержанию элементного углерода в единице объема воздуха. Необходимо также разработать новые методические рекомендации по методам контроля УНТ в объектах окружающей среды, учитывая закономерности поведения этих наночастиц во внешней среде.

**Биологические маркеры воздействия МУНТ в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.** Нами была проведена сравнительная оценка токсических эффектов промышленных однослойных и многослойных УНТ (ОУНТ/МУНТ) в культурах макрофагов (RAW 264.7) и клеток бронхиального эпителия (BEAS-2B) [13, 14]. Макрофаги RAW 264.7 оказались гораздо более чувствительны к воздействию различных типов УНТ, чем клетки бронхиального

эпителия. Внесение МУНТ не сопровождалось достоверным снижением жизнеспособности макрофагов, но вызвало повреждение клеточных мембран; оксидативный стресс имел дозо- и времязависимый характер. ОУНТ вызвали значительное снижение жизнеспособности и индукцию оксидативного стресса. Улучшенная темнопольная микроскопия (CytoViva) выявила адсорбцию и накопление МУНТ и ОУНТ на поверхности и внутри макрофагов. Клетки бронхиального эпителия BEAS-2B оказались мало восприимчивы к экспозиции МУНТ. Внесение ОУНТ в культуру BEAS-2B вызвало небольшое статистически достоверное дозо- и времязависимое снижение жизнеспособности и выраженное снижение уровня восстановленного глутатиона только при самой высокой концентрации наночастиц. Результаты исследования свидетельствуют о различиях в токсическом действии различных УНТ и о необходимости вдумчивого подхода к оценке токсичности наноматериалов и разработке отечественной нормативной документации с учетом особых физико-химических свойств углеродных наноматериалов.

В исследованиях на мышах нами был обнаружен профибротический потенциал нативных промышленных МУНТ, причем гистологическая картина легочного фиброза сопровождалась достоверным дозо- и времязависимым повышением уровней таких биологических маркеров, как TGF- $\beta$  и остеоонтин в сыворотке крови и бронхоальвеолярном лаваже [15].

Для исследований были взяты двухмесячные мыши линии C57BL/6J, самки, масса тела  $18 \pm 2$  граммов. Животные были разделены на контрольную и три опытные группы по 40 мышей в каждой. Опытные группы путем фарингеальной аспирации получили по 20, 40 и 80 мкг МУНТ в 0,001 % растворе ДПФХ; контрольной группе тем же способом был введен фосфатно-буферный раствор. Затравочная доза была выбрана с учетом собственных данных оценки содержания МУНТ в воздухе на рабочих местах предприятия-производителя. Специфических моделей депонирования УНТ в легких человека не существует, поэтому для установления ориентировочных депонированных доз применялась модель MPPD [16]. Среднесменная концентрация аэрозоля МУНТ достигала  $29 \text{ мкг/м}^3$ , что соответствует накопленной за 25 лет рабочего стажа депонированной дозе в  $980 \text{ мкг}$  на  $1 \text{ м}^2$  поверхности эпителия легких. При расчете были использованы следующие входные данные: концентрация аэрозоля МУНТ  $29 \text{ мкг/м}^3$ , размер агломератов МУНТ в воздухе  $1,5 \text{ мкм}$ , минутный

объем дыхания  $20 \text{ л/мин}$  для легкой физической нагрузки, модель распределения частиц аэрозоля по Yeh-Schum, площади поверхности эпителия легких  $102 \text{ м}^2$ . Затравочные дозы в 20, 40 и 80 мкг/мышь соответствуют депонированным дозам 400, 800 и 1600 мкг на  $1 \text{ м}^2$  альвеолярного эпителия соответственно.

Для того, чтобы оценить фиброгенные эффекты МУНТ, в сыворотке крови методами ИФА определялись TGF- $\beta$  (основной маркер) и остеоонтин. Последний был выбран в качестве маркера сравнения с TGF- $\beta$ . В гомогенатах легких были измерены уровни восстановленного глутатиона и миелопероксидазы (МПО). У половины мышей из каждой подгруппы легкие были извлечены, зафиксированы, гистологические срезы окрашены гематоксилином-эозином, а также трихромом по Массону.

На 28-й и 56-й дни эксперимента гистологическая картина в легких характеризовалась наличием гранулем, в центре которых определялись агломерированные МУНТ, многочисленные альвеолярные макрофаги, гигантские клетки и фибробласты. В лаважной жидкости через 2 месяца после затравки все еще наблюдались макрофаги с хорошо заметными включениями нанотрубок. Окраска срезов легких трихромом по Массону выявила нарастание количества коллагеновых волокон во всех опытных группах. Было выявлено, что содержание TGF- $\beta$  в сыворотке является чувствительным показателем биологического действия МУНТ, значительно повышаясь уже через 24 часа после экспозиции; уровень остеоонтина достоверно повысился в крови на 28-й день. На момент публикации это были первые полученные данные такого рода; в последующем результаты экспериментов *in vivo* были использованы для планирования эпидемиологических исследований.

**Эпидемиологическое биомаркерное исследование с участием работников, экспонированных к МУНТ.** В ходе эпидемиологического исследования с участием экспонированных к МУНТ работников (10 человек) и контрольной группы (12 человек) было установлено, что контакт с аэрозолем МУНТ на рабочих местах может приводить к изменению содержания некоторых маркеров фиброгенных изменений в сыворотке крови и образцах индуцированной мокроты. В частности, уровни TGF- $\beta 1$  в сыворотке крови и KL-6 в образцах мокроты оказались достоверно зависимыми от экспозиции к МУНТ [17]. Кроме того, анализ профиля экспрессии мРНК выявил значимое повышение экспрессии генов, кодирующих KL-6, и ряда других генов, регулирующих его активность

(IL6, EGFR, TGFβ, ERK, PDGFA, CASP8).

Сравнение профилей экспрессии некодирующих и матричных РНК в группе работников, подвергавшихся воздействию МУНТ, и контрольной группе выявило достоверные различия, свидетельствующие о том, что профессиональные экспозиции к МУНТ могут потенциально повышать риски развития легочных и сердечно-сосудистых заболеваний, а также злокачественных новообразований, согласуясь с данными, полученными ранее исследователями в экспериментах *in vivo* [18].

В отсутствие убедительных данных о безопасности МУНТ для здоровья человека и исходя из принципа разумной предосторожности, на производствах необходимо внедрять систему профилактических мероприятий. Экспозиции могут быть уменьшены за счет проектирования закрытых технологических процессов, контроля уровней МУНТ в различных технологических зонах и в зоне дыхания работников, санитарно-технических мероприятий, применения средств индивидуальной защиты. Биологический мониторинг и медицинские осмотры работников позволят выявить ранние признаки нарушений здоровья и накопить банк биологических образцов для по-

следующих исследований. Основываясь на результатах проведенных исследований, следует рекомендовать включение в «Перечень вредных и (или) опасных производственных факторов, при наличии которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры» отдельного пункта «Углеродные нанотрубки» с периодичностью медицинского осмотра 1 раз в год, участием оториноларинголога, дерматовенеролога, онколога, аллерголога, онколога и проведением спирометрии, рентгенографии и биохимических анализов содержания маркеров фиброза (TGF-β, остеокальцин) в сыворотке крови и индуцированной мокроте.

**Заключение.** Современные инновационные нанотехнологические производства требуют особого подхода к оценке условий труда и профессиональных рисков. Существующая нормативно-методическая база и инструменты (как отечественные, так и зарубежные) зачастую не позволяют выявить риски здоровью и оценить их количественные характеристики. Необходимы интенсивные исследования и регулярный пересмотр нормативной базы с использованием актуальной научной информации.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global markets and technologies for carbon nanotubes. BCC Research. Market forecasting. - <http://www.bccresearch.com/market-research/nanotechnology/carbon-nanotubes-global-markets-technologies-report-nan024f.html>. [Электронный ресурс]
2. Baron P.A., Maynard A.D., Foley M. Evaluation of aerosol release during the handling of unrefined single walled carbon nanotubes material. NIOSH Report. NIOSH DART - 02-191. 2002.
3. Birch M.E., Ku B.K., Evans D.E., Ruda-Eberenz T. Exposure and emissions monitoring during carbon nanofiber production. Part I: elemental carbon and iron-soot aerosols. Ann. Occup. Hyg. 2011; 55: 1016-1036.
4. Birch M.E. Exposure and emissions monitoring during carbon nanofiber production. Part II: polycyclic aromatic hydrocarbons. Ann. Occup. Hyg. 2011; 55: 1037-1047.
5. Birch M.E. Occupational monitoring of particulate diesel exhaust by NIOSH method 5040. Appl. Occup. Environ. Hyg. 2002; 17: 400-405.
6. Dahm M.M., Evans D.E., Schubauer-Berigan M.K., Birch M.E., Daddens J.A. Occupational exposure assessment in carbon nanotube and nanofiber primary and secondary manufacturers: mobile direct-reading sampling. Ann. Occup. Hyg. 2013; 57: 328-344.
7. МР 1.2.2639-10. Использование методов количественного определения наноматериалов на предприятиях наноиндустрии. [Электронный ресурс] Доступ из справочно-правовой системы «ГАРАНТ».
8. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Tkachev A.G., Birch M.E., Shvedova A.A. Assessment of airborn multiwalled carbon nanotubes in a manufacturing environment. Nanotechnologies in Russia. 2016; 11: 110-116.
9. Dahm M.M., Schubauer-Berigan M.K., Evans D.E., Birch M.E., Fernback J.E., Daddens J.A. Carbon nanotube and nanofiber exposure assessments: an analysis of 14 site visits. Ann. Occup. Hyg. 2015; 59: 1135-1151.
10. Hedmer M., Isaxon C., Nilsson P.T., Ludvigsson L., Messing M.E., Genberg J., Skaug V., Bohgard M., Tinnerberg H., Pagels J.H. Exposure and emission measurements during production, purification, and functionalization of arc-discharge-produced multi-walled carbon nanotubes. Ann Occup Hyg. 2014; 58: 355-379.
11. Халиуллин Т.О., Залаялов Р.Р., Шведова А.А., Ткачев А.Г., Фатхутдинова Л.М. Гигиеническая оценка производства многослойных углеродных нанотрубок. Медицина труда и промышленная экология. 2015; 7:37-41.
12. Laitinen H., Vuorinen M., Simola A., Yrjänheikki E. Safety Science. 2013; 54: 69-79.
13. Халиуллин Т.О., Кисин Е.Р., Мюррэй Р.Э., Залаялов Р.Р., Шведова А.А., Фатхутдинова Л.М. Токсические эффекты углеродных нанотрубок в культурах клеток макрофагов и бронхиального эпителия. Вестник Томского государственного университета. Биология. 2014; 1: 199-210.
14. Khaliullin T.O., Fatkhutdinova L.M., Zalyalov R.R., Kisin E.R., Murray A.R., Shvedova A.A. In vitro toxic effects of different types of carbon nanotubes. IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 98 012021. 2015; <http://dx.doi.org/10.1088/1757-899X/98/1/012021>.
15. Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Fatkhutdinova L.M., Shvedova A.A., Kisin E.R. Evaluation of fibrogenic potential of industrial multi-walled carbon nanotubes in acute aspiration experiment. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015; 158: 684-687.
16. de Winter-Sorkina R., Cassee F.R. National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) Report; Bilthoven, Netherlands. 2002.
17. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Vasil'yeva O.L., Zalyalov R.R., Mustafin I.G., Kisin E.R., Birch M.E., Yanamala N., Shvedova A.A. Toxicol. Fibrosis biomarkers in workers exposed to MWCNTs. Appl. Pharmacol. 2016; 229: 125-131.
18. Shvedova A.A., Yanamala N., Kisin E.R., Khaliullin T.O., Birch M.E., Fatkhutdinova L.M.. Integrated analysis of dysregulated ncRNA and mRNA expression profiles in humans exposed to carbon nanotubes. PLOS ONE. 2016; <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150628>.

## REFERENCES:

1. Global markets and technologies for carbon nanotubes. BCC Research. Market forecasting. - <http://www.bccresearch.com/market-research/nanotechnology/carbon-nanotubes-global-markets-technologies-report-nan024f.html>. [Электронный ресурс]
2. Baron P.A., Maynard A.D., Foley M. Evaluation of aerosol release during the handling of unrefined single walled carbon nanotubes material. NIOSH Report. NIOSH DART - 02-191. 2002.
3. Birch M.E., Ku B.K., Evans D.E., Ruda-Eberenz T. Exposure and emissions monitoring during carbon nanofiber production. Part I: elemental carbon and iron-soot aerosols. Ann. Occup. Hyg. 2011; 55: 1016-1036.
4. Birch M.E. Exposure and emissions monitoring during carbon nanofiber production. Part II: polycyclic aromatic hydrocarbons. Ann. Occup. Hyg. 2011; 55: 1037-1047.
5. Birch M.E. Occupational monitoring of particulate diesel exhaust by NIOSH method 5040. Appl. Occup. Environ. Hyg. 2002; 17: 400-405.
6. Dahm M.M., Evans D.E., Schubauer-Berigan M.K., Birch M.E., Daddens J.A. Occupational exposure assessment in carbon nanotube and nanofiber primary and secondary manufacturers: mobile direct-reading sampling. Ann. Occup. Hyg. 2013; 57: 328-344.
7. МР 1.2.2639-10. Using the methods of quantifying nanomaterials in nanotechnology enterprises. [Electronic resource]. Access from legal system «GARANT» (in Russian).
8. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O.,

- Zalyalov R.R., Tkachev A.G., Birch M.E., Shvedova A.A. Assessment of airborne multiwalled carbon nanotubes in a manufacturing environment. *Nanotechnologies in Russia*. 2016; 11: 110-116.
9. Dahm M.M., Schubauer-Berigan M.K., Evans D.E., Birch M.E., Fernback J.E., Deddens J.A., Carbon nanotube and nanofiber exposure assessments: an analysis of 14 site visits. *Ann. Occup. Hyg.* 2015; 59: 1135-1151.
10. Hedmer M., Isaxon C., Nilsson P.T., Ludvigsson L., Messing M.E., Genberg J., Skaug V., Bohgard M., Tinnerberg H., Pagels J.H. Exposure and emission measurements during production, purification, and functionalization of arc-discharge-produced multi-walled carbon nanotubes. *Ann Occup Hyg.* 2014; 58: 355-379.
11. Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Shvedova A.A., Tkachev A.G., Fatkhutdinova L.M. Hygienic evaluation of the production of multi-walled carbon nanotubes // *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2015; 7:37-41 (in Russian).
12. Laitinen H., Vuorinen M., Simola A., Yrjänheikki E. *Safety Science*. 2013; 54: 69-79.
13. Khaliullin T.O., Kisin E.R., Myurey R.E., Zalyalov R.R., Shvedova A.A., Fatkhutdinova L.M. Toxic effects of carbon nanotubes in macrophages and bronchial epithelial cell cultures. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. 2014; 1: 199-210 (in Russian).
14. Khaliullin T.O., Fatkhutdinova L.M., Zalyalov R.R., Kisin E.R., Murray A.R., Shvedova A.A. In vitro toxic effects of different types of carbon nanotubes. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 98 012021. 2015: <http://dx.doi.org/10.1088/1757-899X/98/1/012021>.
15. Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Fatkhutdinova L.M., Shvedova A.A., Kisin E.R. Evaluation of fibrogenic potential of industrial multi-walled carbon nanotubes in acute aspiration experiment. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 158: 684-687.
16. de Winter-Sorkina R., Cassee F.R. National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) Report; Bilthoven, Netherlands. 2002.
17. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Vasil'yeva O.L., Zalyalov R.R., Mustafin I.G., Kisin E.R., Birch M.E., Yanamala N., Shvedova A.A. Toxicol. Fibrosis biomarkers in workers exposed to MWCNTs. *Appl. Pharmacol.* 2016; 229: 125-131.
18. Shvedova A.A., Yanamala N., Kisin E.R., Khaliullin T.O., Birch M.E., Fatkhutdinova L.M. Integrated analysis of dysregulated ncRNA and mRNA expression profiles in humans exposed to carbon nanotubes. *PLOS ONE*. 2016: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150628>

L.M. Fatkhutdinova<sup>1</sup>, T.O. Khaliullin<sup>1,2</sup>, R.R. Zalyalov<sup>1</sup>, E.R. Kisin<sup>2</sup>, A.A. Shvedova<sup>2</sup>.

### OCCUPATIONAL EXPOSURE AND MEDICO-BIOLOGICAL EFFECTS OF MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES: OVERVIEW OF AUTHORS' RESEARCHES

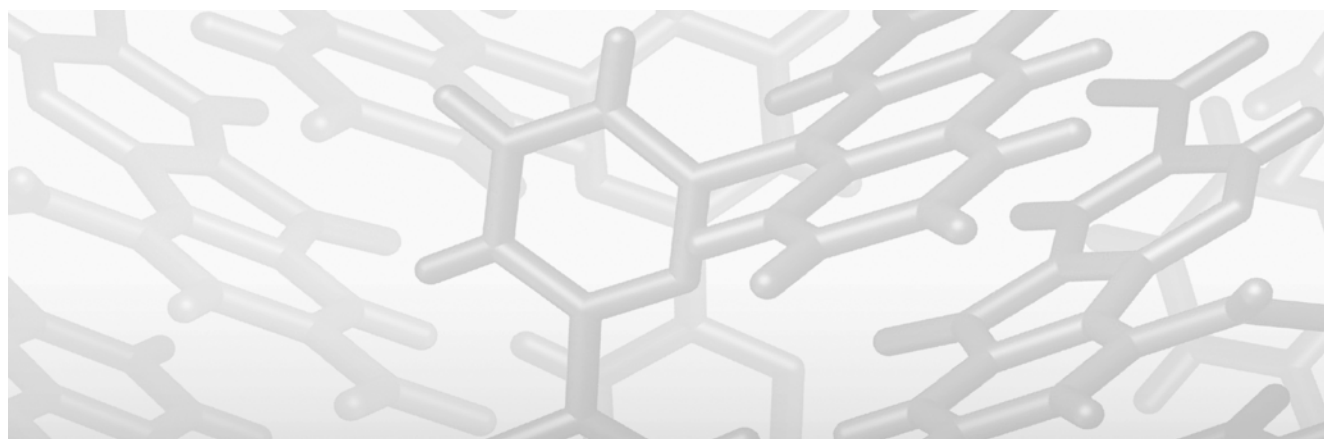
<sup>1</sup>Kazan State Medical University, RF Ministry of Healthcare, 420012 Kazan, Russian Federation

<sup>2</sup>National Institute for Occupational Safety and Health, WV 26505, Morgantown, USA

Advanced studies on the behavior of nanoparticles in living systems and safety degree of new nanomaterials is one of the strategic objectives of the development of nanotechnology network. The urgency of the issue is due to the lack of sufficient information about behavior of engineered nanoparticles in living systems, including humans. Carbonaceous materials occupy one of the leading position on the market of nanomaterials. The number of enterprises, which produce or use carbon nanotubes (CNT) and other types of carbon nanomaterials is growing from year to year. The establishment of molecular cellular mechanisms of CNTs biological and toxic effects in interaction between various biological objects and the human organism is necessary for further development of approaches to technical regulation of the nanoparticles content in various objects and prevention of damaging effects on the human organism. In 2009-2015. the protocol was implemented of a joint Russian-American investigation into exposure assessment and health risk from effects of multi-walled carbon nanotubes CNT-ERA (Carbon NanoTubes Exposure and Risk Assessment), one of the first world research of human health risks associated with industrial exposure to inhaled MWCNT. The study included hygienic, toxicological and epidemiological stages. Respirable fractions concentration of aerosol in the worker's breathing zone, averaged over an 8-hour period, were in the range of 0.54 to 6.11  $\mu\text{g} / \text{m}^3$  (calculated as elemental carbon). Profibrotic potential of native MWCNTs used in industry, as well as potentially increased risk of pulmonary and cardiovascular diseases and malignant lung tumors were identified. The necessity of revision of domestic approaches to assessment methods of exposures and regulation of MWCNTs in the working area, development of a system of preventive measures and health service for workers were proved..

**Keywords:** multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs), fibrogenic effects, carcinogenic risk, studies in vitro and in vivo, epidemiological study, biomarkers, gene expression.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.



УДК 615.9

# ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АПОПТОЗ-РЕГУЛИРУЮЩИХ БЕЛКОВ В НЕЙРОНАХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОСЕРЕБРА, ИНКАПСУЛИРОВАННОГО В ПОЛИМЕРНУЮ МАТРИЦУ

Л.М. Соседова<sup>1,2</sup>, М.А. Новиков<sup>1</sup>,  
Е.А. Титов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, г. Ангарск, Российская Федерация;

<sup>2</sup>Ангарский государственный технический университет, 665831, г. Ангарск, Российская Федерация

Представлены результаты сравнительного анализа экспрессии апоптоз-регулирующих белков caspase-3 и bcl-2 в клетках нервной ткани беспородных белых крыс. Иммуногистохимическое исследование нервной ткани белых крыс выполняли после 9-дневного введения нанобиокомпозитов, состоящих из наночастиц серебра, инкапсулированных в матрицу из природного биополимера – арабиногалактана и синтетического – поли-1-винил-1,2,4-триазола. Обследование белых крыс проводили в 2 этапа: половину крыс из каждой группы забивали непосредственно после окончания воздействия (ранний срок) и оставшиеся крысы – через 6 месяцев после окончания воздействия (отдаленный срок). Установлено, что активность экспрессии регуляторных белков апоптоза при воздействии инновационных нанобиокомпозитов имеет свои особенности в зависимости от вводимого препарата и времени обследования. При обследовании сразу после подострого введения нанобиокомпозита – аргентумарабиногалактана (НАГ) в клетках нервной ткани головного мозга белых крыс возрастает содержание апоптотического и антиапоптотического белков caspase-3 и bcl-2. Выявленные результаты свидетельствуют об активации апоптотических процессов уже на 10-й день после окончания воздействия нанобиокомпозита. В отдаленном периоде обследования количество гиперхромных и нормальных клеток, экспрессирующих белок caspase-3, становится еще выше, что свидетельствует о нарастании с течением времени процесса апоптоза при воздействии нанобиокомпозита на природной матрице-арабиногалактан. В препаратах также выявляется значимое возрастание количества нейронов, экспрессирующих bcl-2, однако протективное действие данного белка не реализуется в полной мере. Таким образом, при сравнительной оценке биологических эффектов полимерных нанобиокомпозитов, содержащих наносеребро в природной и синтетической матрицах арабиногалактана и поли-1-винил-1,2,4-триазола установлено, что нарушения субклеточной организации нейронов возникают при введении только нанобиокомпозита на природной матрице арабиногалактан.

Анализ результатов экспрессии апоптоз-регулирующих белков при введении белым крысам аргентумполивинилтриазола (нПВТ) не выявил по сравнению с введением чистой полимерной матрицы ПВТ, каких-либо изменений, свидетельствующих об активации апоптоза в нервных клетках на протяжении всего периода наблюдений. Изменения показателей носили разнонаправленный характер, не наблюдалось повышение содержания белка bcl-2, эффективно участвующего в регуляции процесса апоптоза, равно как и повышение экспрессии белка caspase-3, свидетельствующего о необратимых изменениях в клетках при индукции апоптоза.

**Ключевые слова:** иммуногистохимия, арабиногалактан, поли-1-винил-1, 2, 4-триазол, наносеребро, апоптоз, лабораторные животные, головной мозг.

**Соседова Лариса Михайловна (Sosedova Larisa Mikhailovna)**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека Ангарского государственного технического университета, 665827, г. Ангарск, Иркутской обл., Российская Федерация, sosedlar@mail.ru;

**Новиков Михаил Александрович (Novikov Mikhail Aleksandrovich)**, мл. научный сотрудник лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, Иркутская область, г. Ангарск-27, Российская Федерация, novik-imt@mail.ru;

**Титов Евгений Алексеевич (Titov Evgeny Alekseevich)**, ст. научный сотрудник лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, Иркутская область, г. Ангарск-27, Российская Федерация, g57097@yandex.ru



**Введение.** Важной задачей современной фармацевтики является поиск новых и модификация известных лекарственных веществ с целью улучшения их терапевтических свойств. Высокая антимикробная, антигрибковая, антивирусная активность наночастиц серебра явилась стимулом к созданию широкого спектра продуктов, включая биологически активные добавки, мази, раневые повязки, контрацептивы, хирургические инструменты и импланты [1, 2]. Актуальной проблемой при этом остается получение композитов на основе синтетических и природных полимеров в качестве матрицы, содержащей наночастицы серебра [3]. Структурная организация таких нанобиокомпозитов – серьезнейшая проблема, без решения которой трудно определить и оптимизировать области их практического использования. В Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН были синтезированы нанобиокомпозиты с инкапсулированными наночастицами серебра на природной матрице – арабиногалактан (АГ), и синтетической – поли-1-винил-1, 2, 4-триазол. (ПВТ). Синтезированные нанобиокомпозиты обладают такими благоприятными функциями, как растворимость, биосовместимость, высокая координирующая способность [4]. Применение данных нанобиокомпозитов невозможно без предварительного исследования их безопасности.

*Целью настоящих исследований* явилась сравнительная оценка экспрессии белков апоптоза в клетках головного мозга крыс в раннем и отдаленном периодах воздействия полимерных нанобиокомпозитов, содержащих наносеребро в природной – арабиногалактан и синтетической – поли-1-винил-1, 2, 4-триазол матрицах.

**Материалы и методы исследования.** В качестве исследуемых субстанций были выбраны нанобиокомпозиты, содержащие наносеребро, инкапсулированное в стабилизирующие матрицы: природный полимер арабиногалактан и синтетический – поли-1-винил-1, 2, 4-триазол. Природный наностабилизирующий полисахарид арабиногалактан представляет собой водорастворимый белый или кремовый порошок, без вкуса и запаха, состоящий из двух моносахаридов: галактозы и арабинозы [5]. Синтезированный на его основе нанобиокомпозит – аргентумарабиногалактан, по результатам исследований физико-химических параметров, содержит наночастицы серебра в нульвалентном состоянии, сферической формы с преобладающим размером 4-8, 9 нм. Содержание серебра в растворе составляет 3,1% [6]. Синтетический полимер поли-1-винил-1, 2, 4-триазол представляет собой субстанцию, способную стабилизировать наночастицы серебра в нульвалентном состоянии. Синтезированный на его основе нанобиокомпозит аргентумполи-1-винил-1, 2, 4-триазол содержит в своём составе наночастицы серебра,

которые имеют сферическую форму с преимущественным размером 2-6 нм. Содержание серебра в растворе составляет 7,03% [7].

Экспериментальные исследования проведены на базе вивария ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» на пятидесяти половозрелых беспородных белых крыс-самцах, массой от 240 до 280 грамм (в каждой группе по 10 особей). Все экспериментальные животные содержались на стандартном рационе. Животные, используемые в экспериментах, имели заключение областной ветеринарной лаборатории (г. Иркутск) на бактерионосительство, отсутствие общих заболеваний и паразитических инвазий, однородность по массе тела и возрасту. Работа выполнена в соответствии с требованиями «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ВОЗ, Женева, 1985) и «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. №708н). Введение исследуемых нанобиокомпозитов осуществляли перорально (с помощью зонда) в течение 9 дней. Особи, сформировавшие 1 группу, являлись контрольными, им вводили по 0,5 мл дистиллированной воды. Животным 2 группы вводили «чистый» АГ, без добавления наночастиц серебра в дозе, эквивалентной введению нанобиокомпозита. Животным 3 группы вводили водный раствор наночастиц серебра, инкапсулированных в природную биополимерную матрицу – арабиногалактан, из расчёта 100 мкг серебра на килограмм массы в 0,5 мл дистиллированной воды (нАГ). Животные 4 группы получали в эквивалентных количествах раствор ПВТ (без наночастиц серебра). Животным 5 группы вводили водный раствор наночастиц серебра, инкапсулированных в синтетическую биополимерную матрицу – поли-1-винил-1, 2, 4-триазол, из расчёта 100 мкг серебра на килограмм массы в 0,5 мл дистиллированной воды (нПВТ). Обследование белых крыс проводили в 2 этапа: непосредственно после окончания воздействия (ранний период) и через 6 месяцев после окончания воздействия (отдаленный период).

Для исследования биологического ответа организма на субклеточном уровне применяли иммуногистохимический метод определения активности белков – модуляторов апоптоза bcl-2 и caspase-3 в нейронах головного мозга белых крыс. Для выполнения исследований нервной ткани животным проводилась эфтаназия путём декапитации. Головной мозг от каждого исследуемого животного был извлечен и фиксирован в нейтральном буферном растворе формалина (10 %), обезвожен этанолом восходящей концентрации (70, 80, 90, 95 и 100 %) и помещен в гомогенизированную парафиновую среду для гистологических исследований HistoMix (BioVitrum, Россия). Далее с помощью

микротомы HM 400 (Micom, Германия) изготавливались серийные горизонтальные срезы толщиной 4-5 мкм на уровне Vregma-6,10 мм, Interaural 3,90 мм. Полученные на микротоме срезы были помещены на полизиновые стёкла (Menzel, Германия) и окрашены с помощью моноклональных антител (Lab Vision Corporation, США) и вторичных антител, конъюгированных с полимером и пероксидазой (Lab Vision Corporation, США). Визуализацию прореагировавших первичных антител проводили при помощи хромогена DAB+ (Lab Vision Corporation, США). Окрашенные срезы фиксировали полистиролом и накрывали покровным стеклом. После высыхания полистирола полученные микропрепараты просматривали на светооптическом исследовательском микроскопе. Далее при помощи системы микроскопии и анализа Image Score M были проанализированы заранее выбранные параметры анализа полученных фотоматериалов: общее количество нейронов на единицу площади, среди них – количество иммунопозитивных и иммунонегативных гиперхромных и неизмененных нормальных нейронов. Иммунопозитивными являлись окрашенные на антитела к белку caspase-3 и bcl-2 клетки, а иммунонегативными – неокрашенные клетки, характеризующие, соответственно, нейроны с экспрессией и без экспрессии изучаемых белков. Гиперхромными считали клетки без четко выраженного ядра, что является признаком повреждения. Количество клеток определяли на единицу площади гистологического препарата (0,2 мм<sup>2</sup>).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0» (Statsoft, США). Статистическую значимость различий в независимых выборках определяли по методу Манна – Уитни. Достигну-

тый уровень значимости признаков – при  $p < 0,01$ .

**Результаты и обсуждение.** Исследование показало, что при воздействии инновационных нанобиокомпозиций выявилось, что изменение их активности, имеет свои особенности в зависимости от вводимого препарата и времени обследования. Изучение экспрессии апоптоз-ингибирующего белкового фактора bcl-2 показало, что при введении «чистого» АГ достоверных по сравнению с контролем изменений процентного содержания всех типов исследуемых клеток по отношению к их общему количеству на площади в 0,2 мм<sup>2</sup> практически не происходит, за исключением отдельных изменений в отдаленном периоде. Однако, при введении нАГ ситуация кардинально изменяется – в ранний период обследования происходило статистически значимое как по сравнению с контролем, так и с АГ, увеличение процентного содержания иммунопозитивных и иммунонегативных к bcl-2 гиперхромных клеток (табл.1). Одновременно с этим в группах нАГ наблюдалось достоверное увеличение количества нормальных клеток с повышенным содержанием белка bcl-2 и, соответственно, снижение нормальных иммунонегативных клеток. Полученные результаты указывают на активацию экспрессии апоптоз-ингибирующего белкового фактора и мобилизацию защитных механизмов, препятствующих развитию апоптоза.

При обследовании через 6 месяцев (отдаленный срок) выявленная направленность изменений сохранялась, при этом значительно чаще по сравнению с контрольной группой и группой АГ выявлялись гиперхромные и нормальные иммунопозитивные к bcl-2 клетки с одновременным сокращением количества нормальных клеток без экспрессии к изучаемому белку.

Таблица 1

**Экспрессия bcl-2 при воздействии АГ и нАГ непосредственно после окончания воздействия (1 срок) и через 6 месяцев (2 срок) (% от общего количества клеток в 0.2 мм<sup>2</sup>) Med (Q25 – Q75)**

Группы	Гиперхромные иммунопозитивные клетки	Гиперхромные иммунонегативные клетки	Нормальные иммунопозитивные клетки	Нормальные иммунонегативные клетки
Контроль	0,59 (0,52-0,62) 1,65 (1,07-1,97)	1,55 (1,24-1,60) 1,63 (0,69-2,25)	2,07 (1,55-2,19) 1,42 (1,12-1,95)	97,19 (95,99-97,33) 94,80 (93,26-95,61)
АГ	0,57 (0,43-0,99) 0,45 (0,36-0,93)*	2,8 (1,56-3,45) 3,21 (2,22-3,78)	3,89 (2,46-5,92) 2,88 (2,21-3,36)*	92,96 (90,23-97,05)* 93,65 (89,74-94,96)
нАГ100	0,93 (0,53-1,68) ♦ 2,59 (2,15-3,50)* ♦	3,35 (3,10-3,74)* ♦ 3,45 (2,64-4,69)*	5,04 (4,30-5,35)* ♦ 8,05 (6,83-8,89)* ♦	90,42 (89,94-91,41)* ♦ 85,84 (84,11-88,54)* ♦

Примечание: в числителе – 1 срок обследования, в знаменателе – 2 срок обследования; \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,01$

♦ – различия статистически значимы по сравнению с группой АГ при  $p < 0,01$ . Статистическая значимость рассчитывалась по Манна-Уитни.

При исследовании экспрессии эффекторного белка caspase-3, активирующего процесс апоптоза, при воздействии нАГ в оба периода обследования также выявлено достоверное по отношению к группе АГ изменение содержания всех типов исследуемых клеток (табл. 2).

Наблюдалось сокращение на единицу площади количества нормальных неизмененных клеток без экспрессии проапоптотического белка caspase-3. В то время как количество гиперхромных клеток и нормальных клеток, экспрессирующих caspase-3 значительно повысились. Выявленные результаты свидетельствуют об активации апоптотических процессов уже на 10-й день после окончания воздействия нанобиокомпозиата. Это сочетается с данными экспрессии ингибитора апоптоза bcl-2, который в ответ на активацию апоптотического процесса при воздействии нАГ начинает в эти же сроки оказывать протективное действие. В отдаленном периоде обследования количество гиперхромных и нормальных клеток, экспрессирующих белок caspase-3, становится еще выше, что свидетельствует о нарастании с течением времени процесса апоптоза при воздействии нанобиокомпозиата на природной матрице-арабиногалактан.

Анализ результатов экспрессии апоптоз-регулирующих белков при введении белым крысам нПВТ не выявил по сравнению с введением чистой полимерной матрицы ПВТ, каких либо изменений, свидетельствующих об активации апоптоза в нервных клетках на протяжении всего периода наблюдений. Изменения показателей носили разнонаправленный характер, не наблюдалось повышение содержания белка bcl-2, эффективно участвующего в регуляции процесса апоптоза, равно как и повышение экспрессии белка caspase-3, свидетельствующего о необратимых изменениях

в клетках при индукции апоптоза (табл.3, 4). Регистрируемые изменения в количествах всех типов изучаемых клеток достоверно отличались лишь от таковых в препаратах контрольной группы, в то время как при воздействии на лабораторных животных «чистым» ПВТ без наночастиц серебра и нПВТ достоверной разницы изучаемых показателей между собой не выявлено.

Полученный результат дал нам основание сделать вывод об идентичном воздействии нанобиокомпозиата, содержащего наносеребро в синтетической матрице ПВТ и «чистым» ПВТ на организм белых крыс. Выявленные изменения экспрессии регуляторных белков апоптоза обусловлены преимущественно матрицей – синтетическим полимером и могут рассматриваться как проявления стандартного ответа организма на введение чужеродного вещества. По нашему мнению, ПВТ и его производные, благодаря особенностям химического строения (отсутствию открытых химических связей, общей химической устойчивости) не распадается на отдельные компоненты и не встраивается в цепь биологических реакций в организме и выводится в практически неизменном виде. Предполагаем, что в силу замкнутой химической структуры наносеребро не выделяется из полимерной матрицы ПВТ, не проникает через гематоэнцефалический барьер и не принимает участия в реакциях клеточного метаболизма.

**Заключение.** В целом при сравнительной оценке биологических эффектов полимерных нанобиокомпозиатов, содержащих наносеребро в природной и синтетической матрицах арабиногалактана и поли-1-винил-1, 2, 4-триазола установлено, что нарушения субклеточной организации нейронов возникают при введении только нанобиокомпозиата на природной матрице араби-

Таблица 2

**Экспрессия белка caspase-3 при воздействии АГ и нАГ непосредственно после окончания воздействия (1 срок) и через 6 месяцев (2 срок) (% от общего количества клеток в 0.2 мм<sup>2</sup>).  
Med (Q25–Q75)**

Группы	Гиперхромные иммунопозитивные клетки	Гиперхромные иммунонегативные клетки	Нормальные иммунопозитивные клетки	Нормальные иммунонегативные клетки
Контроль	<u>0,68 (0,52-0,96)</u> 1,24 (0,97-1,74)	<u>1,68 (1,49-2,05)</u> 1,33 (1,16-1,45)	<u>1,93 (1,76-2,09)</u> 1,45 (0,89-1,75)	<u>95,52 (94,61-95,67)</u> 95,49 (94,93-96,75)
АГ	<u>0,33 (0,00-0,67)</u> 0,90 (0,24-1,34)*	<u>1,83 (1,66-2,40)</u> 1,69 (0,00-2,21)	<u>1,92 (1,66 -2,10)</u> 1,10 (0,00-2,03)	<u>96,11 (95,20-96,50)</u> 95,53 (94,83-95,72)
нАГ100	<u>1,10 (0,49-1,40)*♦</u> 3,82 (2,78-5,05)* ♦	<u>3,20 (2,76-4,20)* ♦</u> <u>3,03 (0,85-4,80)*</u>	<u>4,90 (2,34-12,80)*♦</u> 8,89 (6,25-31,24)* ♦	<u>87,21 (80,85-92,05)* ♦</u> 84,02 (59,70-86,35)* ♦

Примечание: в числителе – 1 срок обследования, в знаменателе – 2 срок обследования;

\* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,01$ ; ♦ – различия статистически значимы по сравнению с группой АГ при  $p < 0,01$ . Статистическая значимость рассчитывалась по Манна-Уитни.

Таблица 3

**Экспрессия bcl-2 при воздействии ПВТ и нПВТ непосредственно после окончания воздействия (1 срок) и через 6 месяцев (2 срок) (% от общего количества клеток в 0.2 мм<sup>2</sup>). Med (Q25 – Q75)**

Группы	Гиперхромные иммунопозитивные клетки	Гиперхромные иммунонегативные клетки	Нормальные иммунопозитивные клетки	Нормальные иммунонегативные клетки
Контроль	<u>0,59 (0,52-0,62)</u> 1,65 (1,07-1,97)	<u>1,55 (1,24-1,60)</u> 1,63 (0,69-2,25)	<u>2,07 (1,55-2,19)</u> 1,42 (1,12-1,95)	<u>97,19 (95,99-97,33)</u> 94,80 (93,26-95,61)
ПВТ	<u>1,15 (0,88-1,62)</u> 1,45 (1,27-2,68)	<u>2,86 (1,95-3,93)*</u> 3,43 (2,59-4,16)*	<u>4,18 (2,79-4,45)*</u> 4,46 (4,2-5,10)*	<u>92,62 (90,44-93,52)*</u> 88,24 (85,28-89,08)*
нПВТ100	<u>0,92 (0,42-1,11)</u> 1,54 (0,71-1,76)	<u>3,34 (2,76-3,80)*</u> 3,26 (2,29-4,55)	<u>4,66 (3,89-5,36)*</u> 4,01 (3,79-5,50)*	<u>90,83 (90,33-91,85)*</u> 86,29 (82,57-87,43)*

Примечание: в числителе – 1 срок обследования, в знаменателе – 2 срок обследования; \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,01$ ; Статистическая значимость рассчитывалась по Манна-Уитни.

Таблица 4

**Экспрессия caspase-3 при воздействии ПВТ и нПВТ непосредственно после окончания воздействия (1 срок) и через 6 месяцев (2 срок) (% от общего количества клеток в 0.2 мм<sup>2</sup>). Med (Q25 – Q75)**

Группы	Гиперхромные иммунопозитивные клетки	Гиперхромные иммунонегативные клетки	Нормальные иммунопозитивные клетки	Нормальные иммунонегативные клетки
Контроль	<u>0,68 (0,52-0,96)</u> 1,24 (0,97-1,74)	<u>1,68 (1,49-2,05)</u> 1,33 (1,16-1,45)	<u>1,93 (1,76-2,09)</u> 1,45 (0,89-1,75)	<u>95,52 (94,61-95,67)</u> 95,49 (94,93-96,75)
ПВТ	<u>0,94 (0,50-1,43)</u> 1,41 (0,87-2,22)*	<u>2,77 (1,64-3,06)</u> 2,45 (1,60-3,20)*	<u>3,93 (3,42-4,36)*</u> 1,26 (1,01-2,36)*	<u>92,30 (90,00-93,90)*</u> 88,50 (86,56-88,97)*
нПВТ100	<u>0,93 (0,46-1,66)</u> 0,47 (0,40-0,75)	<u>3,43 (2,24-4,10)*</u> 2,22 (1,72-2,30)	<u>5,94 (2,61-15,00)</u> 2,40 (2,00-2,99)	<u>87,21 (80,85-92,06)*</u> 94,86 (93,48-95,88)

Примечания: в числителе – 1 срок обследования, в знаменателе – 2 срок обследования; \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,01$ . Статистическая значимость рассчитывалась по Манна-Уитни.

ногалактан. Сопоставление результатов экспрессии белков caspase-3 и bcl – 2 позволяет сделать заключение о способности наносеребра, инкапсулированного в полимерную матрицу арабиногалактан, индуцировать в нейронах коры головного мозга запуск апоптотического каскада. Увеличение количества нейронов с экспрессией проапоптотического белка, а также резкое снижение числа нормальных нейронов в отдаленном периоде обследования белых крыс свидетельствует о динамическом нарастании патологического процесса. Появление отдаленных эффектов действия при введении крысам нАГ и отсутствие подобных при воздействии «чистым» АГ может быть обусловлено физико-химическими свой-

ствами наночастиц серебра: такими, как длительное персистирование в организме, способность к материальной кумуляции и к образованию конгломератов в структурах клетки и межклеточном пространстве [8, 9]. При этом длительное нахождение и незначительная элиминация наночастиц серебра из организма вполне вероятно способствует формированию накопленных неблагоприятных эффектов [10].

Таким образом, наночастицы серебра, инкапсулированные в природную биополимерную матрицу – арабиногалактан, способны проникать через гематоэнцефалический барьер и, длительно сохраняясь в нервной ткани головного мозга крыс, вызывать развитие процесса апоптоза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Подкопаев Д.О., Шабурова Л.Н., Баладин Г.В., Крайнева О.В., Лабутина Н.В., Суворов О.А., Сидоренко Ю.И. Сравнительная оценка антимикробной активности наночастиц серебра. Российские нанотехнологии. 2013; 8(11-12): 123-126.
2. Магомедов М.М., Рабаданов Ш.Х., Нурмагомедова П.М., Магомедова З.А., Гамзатов Г.М. Санация брюшной полости биосеребром в лечении экспериментального перитонита. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2014;12(5): 51-55.
3. Рачковская Л.Н., Летягин А.Ю., Бурмистров В.А., Королев М.А., Гельфонд Н.Е., Бородин Ю.И., Коненков В.И. Модифицированные сорбенты для практического здравоохранения. Сибирский научный медицинский журнал. 2015;35(2): 47-54.
4. Шумакова А.А., Смирнова В.В., Тананова О.Н., Трушина Э.Н., Кравченко Л.В., Аксенов И.В. и др. Токсиколого-гигиеническая характеристика наночастиц серебра, вводимых в желудочно-кишечный тракт крыс. Вопросы питания. 2011; 80(6): 9-18.
5. Бабкин В.А. и др. Биомасса листовенницы: от химического состава до инновационных продуктов. Новосибирск: Изд-во СО РАН; 2011.
6. Ганенко Т.В., Костыро Я.А. и др. Патент RU 2462254 С2. Бюллетень изобретателя. 2012; 27.
7. Galina F Prozorova, Aleksandr SPozdnyakov, Nadezhda P Kuznetsova, Svetlana Akorzhova, Artem I Emel'yanov, Tamara Germakova, et al. Green synthesis of water-soluble nontoxic polymeric nanocomposites containing silver nanoparticles/International Journal of Nanomedicine. 2014; 9: 1883-1889.
8. Бузулуков Ю.П., Арианова Е.А., Демин В.Ф., Сафенкова И.В., Гмошинский И.В., Тутельян В.А. Изучение бионакопления наночастиц серебра и золота в органах и тканях крыс методом нейтронно-активационного анализа Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2011; 3: 286-289.
9. Loeschner K. et al. Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. Particle and Fibre Toxicology. 2011; 8 (18). Available at:<http://www.particleandfibretoxicology.com/content/8/1/18>.
10. Asgharil, S. et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. Journal of Nanobiotechnology. 2012; 10 (14). Available at: <http://www.jnanobiotechnology.com/content/10/1/14>.

## REFERENCES:

1. Podkopaev D.O., Shaburova L.N., Balandin G.V., Krayneva O.V., Labutina N.V., Suvorov O.A., Sidorenko Yu.I. Sravnitel'naya otsenka antimikrobnoy aktivnosti nanochastits serebra. Rossiyskie nanotekhnologii. 2013; 8(11-12): 123-126 (in Russian).
2. Magomedov M.M., Rabadanov Sh.Kh., Nurmagomedova P.M., Magomedova Z.A., Gamzatov G.M. Sanatsiya bryushnoy polosti bioserebrom v lechenii eksperimental'nogo peritonita. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii. 2014; 12 (5): 51-55 (in Russian).
3. Rachkovskaya L.N., Letyagin A.Yu., Burmistrov V.A., Korolev M.A., Gel'fond N.E., Borodin Yu.I., Konenkov V.I. Modifitsirovannye sorbenty dlya prakticheskogo zdoravookhraneniya. Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal. 2015; 35 (2): 47-54 (in Russian).
4. Shumakova A.A., Smirnova V.V., Tananova O.N., Trushina E.N., Kravchenko L.V., Aksenov I.V. i dr. Toksikologo-gigienicheskaya kharakteristika nanochastits serebra, vvodimykh v zheludochno-kishechnyy trakt krys. Voprosy pitaniya. 2011; 80(6): 9-18 (in Russian).
5. Babkin V.A. i dr. Biomassa listvenitsy: ot khimicheskogo sostava do innovatsionnykh produktov. Novosibirsk: Izd-vo SO RAN; 2011 (in Russian).
6. Ganenko T.V., Kostyuro Ya.A. i dr. Patent RU 2462254 C2. Byulleten' izobretatelya. 2012; 27 (in Russian).
7. Galina F Prozorova, Aleksandr SPozdnyakov, Nadezhda P Kuznetsova, Svetlana Akorzhova, Artem I Emel'yanov, Tamara Germakova, et al. Green synthesis of water-soluble nontoxic polymeric nanocomposites containing silver nanoparticles/International Journal of Nanomedicine. 2014; 9: 1883-1889.
8. Buzulukov Yu.P., Arianova E.A., Demin V.F., Safenkova I.V., Gmoshinskiy I.V., Tutel'yan V.A. Izuchenie bionakopleniya nanochastits serebra i zlota v organakh i tkanyakh krys metodom neytronnogo aktivatsionnogo analiza Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya biologicheskaya. 2011; 3: 286-289 (in Russian).
9. Loeschner K. et al. Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. Particle and Fibre Toxicology. 2011; 8 (18). Available at:<http://www.particleandfibretoxicology.com/content/8/1/18>.
10. Asgharil, S. et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. Journal of Nanobiotechnology. 2012; 10 (14). Available at: <http://www.jnanobiotechnology.com/content/10/1/14>.

L.M. Sosedova<sup>1,2</sup>, M.A. Novikov<sup>1</sup>, E.A. Titov<sup>1</sup>.

## FEATURES OF APOPTOSIS-REGULATORY PROTEINS EXPRESSION IN NEURONS OF WHITE RATS AT EXPOSURE TO NANOSILVER ENCAPSULATED IN A POLYMER MATRIX

<sup>1</sup>East-Siberian Institute of Medical and Ecological Researches, 665827 Angarsk, Russian Federation

<sup>2</sup>Angarsk State Technical University, 665831 Angarsk, Russian Federation

Results of a comparative analysis of apoptosis-regulating proteins caspase-3 and bcl-2 expression in nerve tissue cells of outbred white rats are reported. An immunohistochemical investigation into the white rats nerve tissue was performed 9-days after administration of nano biocomposites consisting of silver nanoparticles encapsulated in a matrix of arabinogalactan, a natural biopolymer, and synthetic one – poly-1-vinyl-1,2,4-triazole. White rats were examined in 2 stages: half of the rats from each group was sacrificed immediately after exposure (early term) and the rest of rats- 6 months after the end of exposure (delayed term). It was found out that the expression activity of apoptosis regulatory protein at exposure to innovative nano biocomposites had its special features depending on a preparation administered and time of inspection. The examination immediately after subacute administration of arabinogalactan, a nano biocomposite, showed that the content of apoptotic and anti-apoptotic proteins caspase-3 and bcl-2 increased in the nerve tissue cells of white rats brain. Identified results showed activation of apoptotic processes as early as on the 10th day after the end of exposure to nano biocomposites. In a delayed examination period, a number of hyperchromic and normal cells expressing the protein caspase-3, became even higher testifying to intensification of apoptosis over time under impact of nanocomposite based on the natural matrix of arabinogalactan. A significant increase in number of neurons expressing bcl – 2 was also revealed in preparations but the protective effect of this protein was not fully realized. Thus, when comparatively assessing biological effects of polymer nano biocomposites containing nano silver in natural and synthetic matrices of arabinogalactan and poly-1-vinyl-1,2,4-triazole, it was found out that disorders in neuron subcellular organization emerge at only administration of nanobiocomposite in natural matrix of arabinogalactan. Analysis of results of expression of apoptosis-regulating proteins at administration of argentum polyvinyl triazola (PVT) to white rats did not reveal any changes as compared to administration of pure polymer matrix that could attest to activation of apoptosis in nerve cells throughout the observation period. Changes in indices had multidirectional character, an increased content of bcl-2 protein that was effectively involved in the regulation of apoptosis process was not observed, as well as increased expression of the protein caspase-3, which testified to irreversible changes in cells at apoptosis induction.

**Keywords:** immunohistochemistry, arabinogalactan, poly-1-vinyl-1,2,4-triazole, nano silver, apoptosis, laboratory animals, brain.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

УДК 615.9

# СУБХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

*Л.П. Точилкина, Н.В. Ходыкина,  
Л.Ю. Бочарова, М.С. Срослов,  
В.В. Клаучек, Б.Н. Филатов*

ФГУП «Научно-исследовательский институт  
гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА  
России, 400048, г. Волгоград, Российская  
Федерация

**В**опыте на беспородных белых крысах самцах изучена системная токсичность наночастиц диоксида церия в форме 0,078 М гидрозоля. Установлено, что двухмесячное пероральное поступление в организм нанодиоксида церия в дозах 50, 10 и 2 мг/кг сопровождается развитием дозозависимого резорбтивного токсического эффекта. Доза 2 мг/кг квалифицирована как порог общего токсического действия в субхроническом эксперименте.

**Ключевые слова:** диоксид церия, наночастицы, гидрозоль, крысы, токсичность, пороговая доза.

**Введение.** Несмотря на чрезвычайное разнообразие современного рынка наноматериалов, к разряду приоритетных причислено не более двух десятков [1, 2, 3]. Относящийся к ним нанодиоксид церия (НДЦ) представляет отдельный интерес как неорганический антиоксидант, обладающий выраженной кислородной нестехиометрией, способностью к быстрой регенерации и ферментомиметическими свойствами, которые в совокупности превращают его в перспективного кандидата для применения в медицине с целью лечения широкого круга заболеваний [4, 5, 6, 7]. Между тем в вопросе о безопасности потенциального терапевтического применения нанодиоксида церия нет полной ясности ввиду противоречивости взглядов на его токсичность и, в особенности, скудности определённых для него параметров токсикометрии [8, 9, 10, 11, 12].

Как показали собственные исследования с внутрибрюшинным введением 0,01 М гидрозоля, в остром опыте нанодиоксиду церия присуща широкая зона биологической активности и дозовая зависимость возникающих эффектов. На максимальном уровне воздействия (80 мг/кг)

наносоединение вызывает негативные длительно сохраняющиеся изменения как на системном, так и на организменном уровне, однако смертельного отравления не развивается. Пороговая доза общего токсического действия (L<sub>imacint</sub>) составила 0,8 мг/кг [13]. Было сделано заключение, что поиск показаний к терапевтическому применению гидрозоля НДЦ в дозе ниже 1 мг/кг для коррекции нарушений, обусловленных активацией перекисного окисления, может оказаться перспективным направлением дальнейших исследований его фармакологической активности. При этом представлялось логичным обращение к субхроническому режиму экспонирования, которое, во-первых, отвечало общепринятой схеме этапности работ по гигиеническому нормированию химических веществ, во-вторых, определялось его оптимальной продолжительностью для выявления возможных полезных фармакологических свойств, в-третьих, обеспечивало преимущество собственным ранее начатым исследованиям. По этим соображениям количественная оценка токсического эффекта нанодиоксида церия в условиях

**Точилкина Людмила Петровна (Tochilkina Lyudmila Petrovna)**, кандидат медицинских наук, ст. научный сотрудник, заведующий лабораторией лекарственной безопасности ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» (НИИГПП) ФМБА России, 400048, г. Волгоград, Российская Федерация, tochilkina@rihtop.ru;

**Ходыкина Нина Владимировна (Khodykina Nina Vladimirovna)**, кандидат биологических наук, вед. научный сотрудник лаборатории лекарственной безопасности ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» (НИИГПП) ФМБА России, 400048, г. Волгоград, Российская Федерация, hodykina@rihtop.ru;

**Бочарова Людмила Юрьевна (Bocharova Lyudmila Yur'evna)**, научный сотрудник лаборатории лекарственной безопасности ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» (НИИГПП) ФМБА России, 400048, г. Волгоград, Российская Федерация, BocharovaLY@mail.ru;

**Срослов Михаил Сергеевич (Sroslov Mikhail Sergeevich)**, научный сотрудник лаборатории лекарственной безопасности ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» (НИИГПП) ФМБА России, 400048, г. Волгоград, Российская Федерация, SroslovMS@gmail.com;

**Клаучек Валентина Васильевна (Klauchek Valentina Vasil'evna)**, доктор медицинских наук, зам. директора по научной работе ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» (НИИГПП) ФМБА России, 400048, г. Волгоград, Российская Федерация, klauchek@rihtop.ru;

**Филатов Борис Николаевич (Filatov Boris Nikolaevich)**, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» (НИИГПП) ФМБА России, 400048, г. Волгоград, Российская Федерация, filatov@rihtop.ru

субхронического эксперимента и стала *целью настоящей работы*.

**Материалы и методы исследования.** Объектом экспериментального исследования являлись образцы высокодисперсного  $0,078^\circ \text{M}$  золя диоксида церия, синтезированные в Институте общей и неорганической химии им. Н. С. Курнакова (РАН, Москва) и охарактеризованные там же с применением методов УФ-видимой спектроскопии, просвечивающей электронной микроскопии, рентгенофазового анализа и динамического светорассеяния. Согласно результатам анализа, синтезированные золи были монодисперсны, содержали сферические наночастицы со средним гидродинамическим размером (радиусом)  $3,5 \text{ нм}$  в количестве  $1,9 \times 10^{23} \text{ мл}^{-1}$  и сохраняли стабильность не менее 1-2 месяцев. Препаратом сравнения служил церий оксид (IV) ЧДА СТП ТУ КОМП 2-532-12 с массовой долей оксида церия 99,5 % (ДЦ).

Изучение системной токсичности проводили в двухмесячном субхроническом опыте на беспородных белых крысах самцах при в/ж способе введения наноматериала в трёх дозах – 50, 10 и 2 мг/кг (опыт 1, 2 и 3 соответственно). Для оценки последствий его применения использовали 2 группы – контрольную и подвергавшуюся воздействию макроаналога – ДЦ традиционной дисперсности (опыт 4). При работе с наногидрозолею маточные образцы разводили до расчётной концентрации деионизированной водой. Макроаналог апплицировали в/ж в виде сонифицированной водной суспензии в дозе 2 мг/кг. Самцы контрольной группы получали деионизированную воду. Объём вводимой жидкости составлял 1 мл на 100,0 г массы тела.

Численность групп составляла 22 особи. Через месяц по 10 из них выводили из эксперимента для промежуточного обследования и завершающей эвтаназии, 60 оставшихся (по 12 в группе) обследовали и умерщвляли в конце эксперимента.

О биологической активности НДС судили по характеру, глубине и динамике изменений показателей, характеризующих функциональное состояние целостного организма, общий уровень обмена веществ, особенности регуляции основных метаболических путей и эффективность механизмов антиперекисной защиты.

Функциональное состояние организма анализировали с применением интегральных тестов: масса тела; ЧСС, мышечная сила, поведенческие реакции (в автоматизированной системе регистрации и идентификации поведенческих актов «LABORAS», «Metris», Нидерланды), морфологический состав крови.

Нарушения метаболизма оценивали на основании анализа изменений основных биохими-

ческих показателей сыворотки крови, включавших содержание общего белка, альбумина, глюкозы, триглицеридов, холестерина, мочевины, креатинина, общего билирубина, молочной и пировиноградной кислот, активность АЛТ, АСТ, ЛДГ, ГГТ, ЩФ и ХЭ. Состояние механизмов антиперекисной защиты организма оценивали по содержанию восстановленного глутатиона в цельной крови и конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) – в сыворотке. Исследования выполняли с применением биохимического анализатора «Chem Well 2910», («Combi», США) или унифицированными спектрофотометрическими методами.

Биологический материал, полученный на некропии животных (головной мозг, сердце, лёгкие, печень, селезёнку, почки, надпочечники, семенники), обследовали макроскопически и использовали для определения коэффициентов массы внутренних органов. В конце эксперимента печень, селезёнку и гонады подвергали гистологическим исследованиям по общепринятой схеме.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с применением критерия t Стьюдента-Фишера [14], используя пакет Primer of Biostatistics 4.03. Различия считали достоверными при  $P \leq 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Ежедневное наблюдение за животными не обнаружило у них явных признаков соматического неблагополучия. Инструментальное обследование подтвердило, что сдвиги на уровне целостного организма у самцов малочисленны. Изменения массы тела, контролируемые еженедельно, были связаны с приближением к возрастному пику физиологической зрелости, нежели обусловлены контактом с НДС: достоверные межгрупповые различия по данному показателю отсутствовали. Независимо от продолжительности экспозиции, гидрозолею не вызывал хронотропного эффекта и не снижал силу мышечной хватки. Отклонения со стороны поведения были минимальными и развивались только после введения НДС в максимальной и промежуточной дозах. В первой половине эксперимента они ограничивались слабовыраженными признаками двигательной гиперактивности, на которую в опыте 1 (50 мг/кг) указывало увеличение длительности перемещений (до  $29,09 \pm 2,66$  сек. против  $21,20 \pm 2,67$  сек. в контроле), в опыте 2 (10 мг/кг) – возрастание на 81 % времени перемещений с максимальной скоростью ( $168,58 \pm 22,44$  сек. в сравнении с  $92,92 \pm 25,36$  сек. в контроле). К концу эксперимента эти сдвиги либо нивелировались, как это наблюдали в первой опытной группе, либо меняли направленность на прямо противоположные, как во второй опытной

группе, где регистрировали двукратное сокращение прежде повышенного времени перемещений с максимальной скоростью ( $65,17 \pm 15,54$  сек. при  $134,42 \pm 28,96$  сек. в контроле).

В большей мере проявилось действие наногидрозоля на морфологический состав периферической крови. Результаты промежуточного обследования свидетельствовали, что НДС при введении в дозах 50 и 10 мг/кг, не оказывая влияния на белый кровяной росток, вызывал глубокие изменения в составе красной крови. У подопытных животных регистрировали выраженную эритропению со снижением содержания эритроцитов в опыте 1 – до  $(8,00 \pm 0,16) \times 10^{12}/л$  и в опыте 2 – до  $(7,81 \pm 0,18) \times 10^{12}/л$  по сравнению с  $(8,40 \pm 0,04) \times 10^{12}/л$  в контроле. В обоих случаях отличия опыта от контроля были не только достоверными, но и выходили за пределы бисигмального диапазона его возможных колебаний. Эритропении сопутствовала гипогемоглобинемия, когда в тех же группах концентрация гемоглобина была ниже контрольного уровня ~ на 6,5 %. Помимо этого, в опыте 2 обнаруживали тромбоцитопению: при содержании кровяных пластинок в крови контрольных животных, равном  $(700,50 \pm 20,27) \times 10^9/л$ , их количество у животных второй группы составляло только  $(639,30 \pm 15,12) \times 10^9/л$ .

Возможно, выявленные гематологические сдвиги были обусловлены токсическим угнетением процессов кроветворения. Однако равновероятно и то, что они явились следствием гиперспленизма. Как известно, селезёнка в отношении кровообращения и кроветворения выполняет важные контрольные функции. Её считают и «депо» крови, и «кладбищем» форменных элементов [15, 16], и потому особый интерес вызывает тот факт, что анемия у животных первой и второй опытных групп сопровождалась достоверным увеличением (в опыте 1 – с выходом за  $2\sigma$  контроля) относительной массы селезёнки – соответственно до  $5,18 \pm 0,36$  г/кг и  $4,69 \pm 0,15$  г/кг при контрольном значении показателя  $4,14 \pm 0,14$  г/кг. Важно отметить, что продление контакта с НДС до двух месяцев приводило к нивелированию отмеченных гематологических нарушений. Более того, в третьей группе, где дозовая нагрузка наночастицами была наименьшей из испытуемых, в конце эксперимента обнаружился некий эффект стимуляции кроветворения в виде повышения содержания в периферической крови количества эритроцитов – до  $(8,37 \pm 0,13) \times 10^{12}/л$  относительно  $(7,80 \pm 0,23) \times 10^{12}/л$  в контроле. Примечательно то, что обратное развитие анемического синдрома, зарегистрированное при финишном обследовании животных первой и второй опытных групп (50 и 10 мг/

кг НДС), происходило на фоне инверсии гравиметрической характеристики селезёнки. Её относительная масса в первой группе не просто нормализовалась, но в сравнении с контролем ( $4,44 \pm 0,16$  г/кг) оказалась достоверно сниженной ( $3,94 \pm 0,13$  г/кг), во второй группе изменения были аналогичны (снижение до  $3,93 \pm 0,44$  г/кг), но имели лишь характер чётко выраженной тенденции.

Таким образом, сравнение патофизиологических сдвигов, выявленных у подопытных животных при промежуточном и финальном обследовании, указывает на возникновение в организме наряду с токсическими эффектами НДС процессов адаптации к ним. Косвенным свидетельством их весьма напряжённого характера, возможно, является снижение относительной массы надпочечников, выявленное в конце эксперимента во всех четырёх группах: при относительной массе органа в контроле, равной  $0,174 \pm 0,004$  г/кг, в опыте 1-4 данный показатель составлял соответственно  $0,157 \pm 0,006$ ;  $0,145 \pm 0,008$ ;  $0,152 \pm 0,010$  и  $0,151 \pm 0,008$  г/кг.

В ходе обоих обследований у всех подопытных животных, получавших наночастицы, наблюдали и немногочисленные изменения ряда биохимических параметров, при этом дозозависимый характер воздействия НДС на обмен веществ определялся не столько количеством и глубиной, сколько направленностью обнаруженных отклонений (табл. 1, 2).

В первую очередь, следует отметить разнонаправленность изменений уровня восстановленного глутатиона в крови. Так, у крыс, получавших НДС в высшей дозе (50 мг/кг), при первом тестировании достоверного отклонения его содержания от контроля не выявлено, а при продлении экспозиций до двух месяцев отмечалось снижение на 16 %, что является плохим прогностическим признаком и указывает на функциональную недостаточность системы антиперекисной защиты организма. У крыс второй группы (10 мг/кг) умеренный (на 9 %) рост восстановленного глутатиона, зарегистрированный в середине эксперимента на фоне роста (до 123 %) мочевины, к окончанию опыта сменился падением, выраженным в той же степени, что и в первой группе. И только животные, экспонированные НДС в низшей дозе (третья группа), отреагировали на его поступление стойким адаптивным повышением показателя (на 11 % и 17 % через один и два месяца соответственно) (табл. 1, 2).

Со стороны белкового обмена при первом обследовании отмечено значимое снижение альбумина в сыворотке крыс первой группы ( $34,28 \pm 0,67$  г/л при  $36,26 \pm 0,42$  г/л у параллельного контроля), возможно, определяемое его связыванием поступающими в кровяное русло



Таблица 1

**Биохимические показатели крови крыс после однемесячного перорального  
воздействия диоксида церия**

Показатели и единицы измерения	Группы животных				
	Опыт 1, НДЦ 50 мг/кг	Опыт 2, НДЦ 10 мг/кг	Опыт 3, НДЦ 2 мг/кг	Опыт 4, ДЦ 2мг/кг	контроль
1	2	3	4		
АСТ, Е/л	187,7±11,1	171,3±11,8	196,0±11,0	216,5±16,9	200,8±9,4
АЛТ, Е/л	75,6±7,4	87,9±6,2	79,4±4,7	84,0±5,5	89,5±5,2
ЛДГ, Е/л	503,1±61,4	396,3±24,0	421,6±59,4	451,8±61,1	472,6±48,6
ГГТ, Е/л	11,64±0,87	10,12±0,82	9,36±0,77	9,20±0,60	10,96±0,66
ЩФ, Е/л	454,7±40,0*	565,2±66,8	581,0±47,1	639,3±75,3	745,8±69,9
ХЭ, Е/л	377,1±17,8	421,1±20,1*	416,8±19,9*	371,6±15,9	362,6±13,6
Альбумин, г/л	34,28±0,67*	35,57±0,38	35,45±0,31	34,99±0,57	36,26±0,42
Общий белок, г/л	78,83±1,59	82,08±0,95	81,20±1,38	80,36±1,05	82,45±1,41
Триглицериды, ммоль/л	0,813±0,074	0,952±0,117	0,792±0,033*	1,067±0,110	0,910±0,041
Холестерин, ммоль/л	2,050±0,127	2,094±0,129	1,846±0,075	2,006±0,093	1,892±0,080
Мочевина, ммоль/л	4,752±0,477	5,502±0,354*	4,404±0,267	4,578±0,344	4,471±0,238
Креатинин, мкмоль/л	32,39±1,83	36,94±1,99	35,05±1,71	34,23±1,67	35,13±1,41
Глюкоза, ммоль/л	4,368±0,124	4,000±0,132	4,248±0,129	4,302±0,205	4,021±0,137
Молочная кислота, ммоль/л	5,472±0,519	5,012±0,391	4,484±0,297*	5,198±0,316	5,550±0,291
ПВК, мкмоль/л	44,11±2,10	43,77±1,74	45,71±2,63	46,82±2,92	47,46±2,22
Молочная кислота/ПВК	122,70±7,62	114,19±7,46	99,38±4,21**	111,74±3,92	116,81±1,86
Билирубин, мкмоль/л	12,18±0,35	12,28±0,25	12,43±0,23	12,47±0,39	12,18±0,16
Восстановленный глутатион, мкмоль/л	1,058±0,026	1,131±0,028*	1,156±0,013*	1,105±0,038	1,038±0,025
МДА, мкмоль/л	12,09±0,42	11,51±0,45	11,33±0,50	11,78±0,35	12,46±0,40
Ca <sup>2+</sup> , ммоль/л	2,505±0,067	2,568±0,044	2,474±0,039	2,523±0,043	2,538±0,035
Хлориды, ммоль/л	111,36±0,94	110,95±0,85	111,05±0,35	110,96±0,44	110,38±0,36

Примечание: \* – обозначены достоверные сдвиги,

\*\* – достоверные сдвиги, выходящие за пределы диапазона физиологических ( $M \pm 2\sigma$ ) колебаний параллельного контроля

наночастицами [17]. На более низких уровнях воздействия НДЦ указанный эффект исчезал, а в третьей группе к окончанию эксперимента наблюдалось достоверное (до 105 %) повышение общего белка, связанное, очевидно, с активацией синтеза.

Энзимологические исследования сыворотки крови выявили у крыс первой группы

значимые отклонения активности ЩФ. При этом установленное через месяц от начала опыта ингибирование фермента (на 39 %) в последующем сменялось его столь же выраженной (на 42 %) активацией с сопутствующим падением концентрации ионов кальция ( $2,244 \pm 0,054$  ммоль/л при  $2,412 \pm 0,042$  ммоль/л в контроле), в обмене которых указанный

**Биохимические показатели крови крыс после двухмесячного перорального воздействия диоксида церия**

Показатели и единицы измерения	Группы животных				
	Опыт 1, НДЦ 50 мг/кг	Опыт 2, НДЦ 10 мг/кг	Опыт 3, НДЦ 2 мг/кг	Опыт 4, ДЦ 2мг/кг	контроль
1	2	3	4		
АСТ, Е/л	187,1±8,5	218,8±18,2	183,8±8,3	184,2±9,7	189,5±14,5
АЛТ, Е/л	86,3±5,0	86,3±5,9	100,4±6,0	89,3±6,6	93,0±7,4
ЛДГ, Е/л	425,9±46,0	465,5±84,1	505,8±41,7	438,6±57,2	435,2±58,5
ГГТ, Е/л	10,14±1,16	10,38±0,496	10,93±0,751	10,11±1,02	11,93±0,53
ЩФ, Е/л	556,8±55,9*	382,4±28,9	409,5±26,3	42525±38,2	391,0±27,4
ХЭ, Е/л	481,8±26,9	497,8±33,9	434,0±14,7	451,3±18,8	464,7±20,2
Альбумин, г/л	34,53±0,41	33,75±0,53	34,28±0,45	33,54±0,45	33,19±0,62
Общий белок, г/л	75,62±0,65	76,16±0,73	79,34±0,73*	78,03±1,13	75,57±0,93
Триглицериды, ммоль/л	0,658±0,038	0,656±0,037	0,666±0,016	<u>0,595±0,026</u>	0,608±0,035
Холестерин, ммоль/л	1,642±0,069	1,648±0,063	1,706±0,061	1,604±0,111	1,633±0,069
Мочевина, ммоль/л	4,426±0,258	4,695±0,274	4,583±0,191	4,730±0,242	4,260±0,339
Креатинин, мкмоль/л	39,27±1,15	42,25±1,42	40,35±2,30	41,15±2,17	41,73±1,56
Глюкоза, ммоль/л	5,472±0,177	5,325±0,255	5,501±0,173	6,000±0,178	5,663±0,191
Молочная кислота, ммоль/л	2,876±0,166	3,003±0,226	2,936±0,137	2,737±0,117	3,040±0,248
ПВК, мкмоль/л	43,79±1,62	48,43±2,30	48,35±1,35	45,13±1,22	46,75±1,70
Молочная кислота/ПВК	65,99±3,64	61,54±3,29	60,88±2,80	63,12±2,51	62,22±3,20
Билирубин, мкмоль/л	10,01±0,46	10,61±0,91	11,40±0,39	10,47±0,30	10,94±0,53
Восстановленный глутатион, мкмоль/л	1,101±0,071*	1,094±0,050*	1,532±0,072*	<u>1,218±0,078</u>	1,309±0,064
МДА, мкмоль/л	10,88±0,48	11,09±0,58	10,44±0,24	10,86±0,31	10,88±0,23
Ca <sup>2+</sup> , ммоль/л	2,244±0,054*	2,359±0,061	2,386±0,062	2,467±0,039	2,412±0,042
Хлориды, ммоль/л	109,32±0,45	109,88±0,67	108,59±0,63	109,93±0,73	110,05±0,61

Примечание: \* – обозначены достоверные сдвиги,

\*\* – достоверные сдвиги, выходящие за пределы диапазона физиологических ( $M \pm 2\sigma$ ) колебаний параллельного контроля

фермент принимает непосредственное участие [18]. В этой связи нельзя исключить ни повреждающего действия наночастиц на клетки желчных протоков, ни нарушений на-

ночастичами метаболизма костной ткани.

У крыс, получавших НДЦ в средней и низшей дозах, энзимологические сдвиги проявлялись умеренной (на 15 %) активацией ХЭ в середине

Таблица 3

**Комплексно-схематическая оценка достоверных сдвигов,  
выявленных в субхроническом эксперименте**

Достоверно изменённые показатели	Группы животных и сроки обследования, месяцы							
	НДЦ						ДЦ	
	опыт 1		опыт 2		опыт 3		опыт 4	
	50 мг/кг		10 мг/кг		2 мг/кг		2 мг/кг	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Физиологические								
Длительность передвижений	↑	-	-	-	-	-	-	-
Время перемещений с максимальной скоростью	-	-	↑	↓	-	-	-	-
Гематологические								
Эритроциты	↓↓	-	↓↓	-	-	↑	-	-
Гемоглобин	↓	-	↓	-	-	-	-	-
Тромбоциты	-	-	↓	-	-	-	-	-
Биохимические								
ЩФ	↓	↑	-	-	-	-	-	-
ХЭ	-	-	↑	-	↑	-	-	-
Альбумин	↓	-	-	-	-	-	-	-
Общий белок	-	-	-	-	-	↑	-	-
Триглицериды	-	-	-	-	↓	-	-	-
Мочевина	-	-	↑	-	-	-	-	-
Молочная кислота	-	-	-	-	↓	-	-	-
Лактат/пируват	-	-	-	-	↓↓	-	-	-
Восстановленный глутатион	-	↓	↑	↓	↑	↑	-	-
Ca <sup>2+</sup>	-	↓		-	-	-	-	-
Относительная масса внутренних органов								
Селезёнка	↑↑	↓	↑	-	-	-	-	-
Надпочечники	-	↓	-	↓	-		-	↓
Достоверных сдвигов	6	5	8	3	5	4	0	1
Из них сдвигов, выходящих за ±2σ контроля	2	0	1	0	1	0	0	0
Суммарное количество достоверных изменений	11 (2)		11 (1)		9 (1)		1 (0)	

Примечание: ↑ и ↓ – направленность достоверных сдвигов;

↑↑ и ↓↓ – направленность достоверных сдвигов, выходящих за пределы диапазона колебаний параллельного контроля (их общее число заключено в скобки)

эксперимента (табл. 1). Адаптивный характер данной реакции представляется вполне обоснованным. Известно, что рост активности холинэстераз обнаруживается при различных стрессовых воздействиях, отражая способность холинергических систем к адаптации к изменившимся условиям. Включение адаптационных механизмов в ответ на ежедневное поступление в организм НДЦ проявлялось и изменениями на уровне регуляции процессов энергообеспечения, имевшими место только у животных, получавших нанопрепарат в низшей дозе (2 мг/кг). При первом тестировании (1 месяц) в сыворотке крыс третьей группы зарегистрировано статистически значимое снижение концентрации молочной кислоты (на 19 %), сопровождавшееся достоверным (с выходом за  $M \pm 2\sigma$  параллельного контроля) падением отношения лактат/пируват ( $99,38 \pm 4,21$  против  $116,81 \pm 1,86$  в контрольной группе) и триглицеридов (до 87 %) (табл. 1). Направленность указанных отклонений свидетельствует в пользу повышения скорости и эффективности энергетического обмена. К окончанию эксперимента отмеченные показатели нормализовались (табл. 2). Обращает на себя внимание, что на протяжении всего эксперимента у крыс группы сравнения, экспонированных макроаналогом, на уровне, соответствующем низшему уровню воздействия НДЦ (2 мг/кг), никаких значимых метаболических сдвигов не выявлено (табл. 1, 2).

Таким образом, плановые тестирования животных продемонстрировали, что субхроническое внутрижелудочное поступление наночастиц диоксида церия не было безразлично для их организма, на что указывали обнаруженные в ходе эксперимента функциональные сдвиги, в схематическом виде отражённые в таблице 3.

Формальный анализ табличных данных мог бы привести к выводу, что все три выбранные для испытаний дозовые уровни НДЦ, несмотря на 5-кратный разрыв между ними, являются едва ли не изотоксичными: суммарное количество достоверных сдвигов, выявленных в 1-3 опытных группах, находится практически на одном уровне. Однако ошибочность подобного умозаключения убедительно доказывают принципиальные различия в характере и динамике нарушений, возникших после введения НЧ ДЦ в разных дозах. Так, большинство гомеостатических сдвигов, развивавшихся на максимальном уровне воздействия НДЦ 50 мг/кг, носили безусловно вредный характер. К их числу, несомненно, следует отнести анемию, спленомегалию, гипоальбуминемию, функциональную недостаточность системы антиперекисной защиты организма и опосредованное ЩФ вмешательство в кальциевый обмен. В условиях же длительного контакта с НДЦ в средней дозе 10 мг/кг стало возможным возник-

новение, наряду с аналогичными токсическими эффектами той же выраженности (анемия, спленомегалия), изменений негативных, но более умеренных (истощаемость системы антиперекисной защиты организма) и даже сдвигов, относимых к адаптивным (повышение активности ХЭ). При снижении дозовой нагрузки на организм ещё в 5 раз (до 2 мг/кг) адаптивный характер приобрели уже практически все выявленные изменения, к числу которых следует отнести стимуляцию эритропоэза, активацию белкового синтеза и повышение эффективности энергетического обмена. Таким образом, зависимость характера наблюдавшихся сдвигов от уровня экспозиции наночастицами вполне очевидна.

Таким образом, результаты дифференцированной оценки последствий применения диоксида церия в разных дозах и опора на принятые в профилактической токсикологии критерии вредности [19] дают основания признать уровни НДЦ 50 и 10 мг/кг действующими, дозу 2 мг/кг – пороговой по общетоксическому эффекту.

Значимость и патогенетическое сходство единственного (!) возникшего после воздействия макроаналога (ДЦ традиционной дисперсности) нарушения с наблюдавшимися при применении НДЦ (снижение относительной массы надпочечников) препятствуют квалификации его дозы 2 мг/кг как недействующей и побуждают рассматривать и её как пороговую.

**Заключение.** В Российской Федерации разработана целостная структурированная система многоуровневой оценки безопасности и контроля наноматериалов на всех стадиях жизненного цикла [20]. Профильные методические документы закрепляют принцип «каскадности» испытаний, и место, цель и задачи субхронического эксперимента в схеме токсиколого-гигиенической оценки наноматериалов чётко обозначены. Вместе с тем очевидно, что это не исключает возможности альтернативного использования представленных материалов, например, для расчёта референтных доз НДЦ и уточнения фармакотерапевтической ценности активирующих эффектов его низкоуровневых воздействий.

#### **Выводы.**

1. Наночастицы диоксида церия диаметром ~ 7 нм при длительном внутрижелудочном введении в дозах 50, 10 и 2 мг/кг оказывают на крыс самцов общее токсическое действие, не вызывая грубых патоморфологических нарушений. Пороговая доза по системному эффекту установлена на уровне 2 мг/кг.

2. На пороговом уровне воздействия (2 мг/кг) модифицирующее влияние НДЦ на функциональный статус организма в сравнении с ДЦ традиционной дисперсности носит более выраженный характер.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические рекомендации МР 1.2.2641-10. Определение приоритетных видов наноматериалов в объектах окружающей среды, живых организмах и пищевых продуктах. М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.
2. Методические рекомендации МР 1.2.0037-11. Контроль наноматериалов в воздухе. М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012.
3. Piccinno F., Gottschalk F., Seeger S., Nowack B. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research*. 2012; 14 (9): 1109-1120.
4. Kyosseva S.V., McGinnis J.F. Cerium oxide nanoparticles as promising ophthalmic therapeutics for the treatment of retinal diseases. *World J. Ophthalmol*. 2015; 5(1): 23-30.
5. Щербakov А. Б., Жолобак Н. М., Иванов В. К., Третьяков Ю. Д., Спивак Н. Я. Наноматериалы на основе диоксида церия: свойства и перспективы использования в биологии и медицине. *Биотехнология Acta*. 2011; 4 (1): 9-28.
6. Estevez A. Y., Erlichman J. S. The potential of cerium oxide nanoparticles (nanoceria) for neurodegenerative disease therapy. *Nanomedicine*. 2014; 9 (10): 1437-40.
7. Иванов В.К., Щербakov А.Б., Баранчиков А.Е., Козик В.В. Нанокристаллический диоксид церия: свойства, получение, применение. Томск; 2013.
8. Tseng M.T., Lu X., Duan X., Hardas S.S., Sultana R., Wu P. et al. Alteration of hepatic structure and oxidative stress induced by intravenous nanoceria. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 2012; 260 (2): 173-82.
9. Спивак Н.Я., Носенко Н.Д., Жолобак Н.М., Щербakov А. Б., Резников А. Г., Иванова О. С. и др. Нанокристаллический диоксид церия повышает функциональную активность репродуктивной системы стареющих самцов крыс. Наносистемы: физика, химия, математика. 2013; 4 (1): 72-7.
10. Ramesh A., Ratla N. N., Indukuri R., Venkatesh K., Rao S.T. Acute and sub-acute oral toxicity assessment of the cerium oxide nanoparticles in Wistar rats. *International Journal of Phytopharmacology*. 2014; 5 (1): 46-50.
11. Poma A., Ragnelli A.M., de Lapuente J., Ramos D., Borrás M., Aimola P. et al. In vivo inflammatory effects of ceria nanoparticles on CD-1 mouse: evaluation by hematological, histological, and TEM analysis. *J. Immunol. Res*. 2014. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/jir/2014/361419/> (accessed 8 August 2016).
12. Ефименко Е.Ю., Савченко Ю.А., Фалалеева Т.М., Береговая Т.В., Щербakov О.Б., Иванов В.К. и др. Изменения моторной функции желудка и толстой кишки у крыс под влиянием нанокристаллического диоксида церия. *Физиологический журнал*. 2014; 60 (3): 67-74.
13. Срослов М.С., Точилкина Л.П., Филатов Б.Н., Ходыкина Н.В. Экспериментальное изучение острой токсичности наночастиц диоксида церия. В сб.: *Нанотоксикология: достижения, проблемы и перспективы: Материалы научной конференции*. Волгоград, 2014; 58-9.
14. Глотов Н.В., ред. *Биометрия: Учебное пособие*. Л.: ЛГУ; 1982.
15. Селезенка, её функции. Available at: <http://www.komykak.ru/analiz/selezenka.html> (accessed 9 August 2016).
16. Сапин М.П., Ревазов В.С. Селезенка и костный мозг. *Здоровье*. 1984; 10. Available at: <http://lechebnik.info/503/12.htm> (accessed 9 August 2016).
17. Song L. Sorption of Bovine Serum Albumin on Nano and Bulk Oxide Particles: Masters Theses 1896. Paper 391. Massachusetts; 2014. Available at: <http://scholarworks.umass.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1475&context=theses> (accessed 10 August 2016).
18. Анализ крови на щелочную фосфатазу. Available at: <http://myfamilydoctor.ru/analiz-krovi-na-shhelochnyuyu-fosfatazu/> (accessed 10 August 2016) (in Russian).
19. Саноцкий И.В., Уланова И.Л. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. М.: Медицина; 1975.
20. Онищенко Г.Г., Тутельян И.В., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А. Развитие системы оценки безопасности и контроля наноматериалов и нанотехнологий в Российской Федерации. *Гигиена и санитария*. 2013; (1): 4-11.
21. Анализ крови на щелочную фосфатазу. Available at: <http://myfamilydoctor.ru/analiz-krovi-na-shhelochnyuyu-fosfatazu/> (in Russian).
16. Sapin M.P., Revazov V.S. Spleen and bone marrow. *Zdorov'e*. 1984; 10. Available at: <http://lechebnik.info/503/12.htm> (accessed 9 August 2016) (in Russian).
17. Song L. Sorption of Bovine Serum Albumin on Nano and Bulk Oxide Particles: Masters Theses 1896. Paper 391. Massachusetts; 2014. Available at: <http://scholarworks.umass.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1475&context=theses> (accessed 10 August 2016).
18. Blood alkaline phosphatase test. Available at: <http://myfamilydoctor.ru/analiz-krovi-na-shhelochnyuyu-fosfatazu/> (accessed 10 August 2016) (in Russian).
19. Sanotskiy I.V., Ulanova I.L. Criteria of harmfulness in hygiene and toxicology for assessment of chemical compounds hazard. M.: Meditsina; 1975 (in Russian).
20. Onishchenko G.G., Tutel'yan I.V., Gmoshinskiy I.V., Khotimchenko S.A. Development of safety evaluation system and control of nanomaterials and nanotechnology in Russian Federation. *Gigiena i sanitariya*. 2013; (1): 4-11 (in Russian).

## REFERENCES:

1. Metodicheskie rekomendatsii MP 1.2.2641-10. Determination of priority types of nanomaterials in environmental objects, living organisms and foods. M.: Federal'nyy Tsentr gijieny i epidemiologii Rospotrebнадзора, 2010 (in Russian).
2. Metodicheskie rekomendatsii MP 1.2.0037-11. Control of nanomaterials in air. M.: Federal'nyy Tsentr gijieny i epidemiologii Rospotrebнадзора, 2010 (in Russian).
3. Piccinno F., Gottschalk F., Seeger S., Nowack B. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research*. 2012; 14 (9): 1109-1120.
4. Kyosseva S.V., McGinnis J.F. Cerium oxide nanoparticles as promising ophthalmic therapeutics for the treatment of retinal diseases. *World J. Ophthalmol*. 2015; 5(1): 23-30.
5. Shcherbakov A. B., Zholobak N. M., Ivanov V. K., Tret'yakov Yu. D., Spivak N. Ya. Nanomaterials based on the nanocrystalline ceric dioxide: properties and use perspectives in biology and medicine. *Biotechnologia Acta*. 2011; 4 (1): 9-28 (in Russian).
6. Estevez A. Y., Erlichman J. S. The potential of cerium oxide nanoparticles (nanoceria) for neurodegenerative disease therapy. *Nanomedicine*. 2014; 9 (10): 1437-40.
7. Ivanov V.K., Shcherbakov A.B., Baranchikov A.E., Kozik V.V. Nanocrystalline cerium dioxide: properties, preparation, application. Tomsk; 2013 (in Russian).
8. Tseng M.T., Lu X., Duan X., Hardas S.S., Sultana R., Wu P. et al. The changes of the motor function of the stomach and the colon under the action of the nanocrystalline cerium dioxide. *Fiziol. Zh*. 2014; 60 (3): 67-74 (in Russian).
9. Spivak N.Ya., Nosenko N.D., Zholobak N.M., Shcherbakov A. B., Reznikov A. G., Ivanova O. S. et al. The nanocrystalline cerium dioxide raises the functional activity of genesial system of ageing males of rats. *Nanosistemy: fizika, khimiya, matematika*. 2013; 4 (1): 72-7 (in Russian).
10. Ramesh A., Ratla N. N., Indukuri R., Venkatesh K., Rao S.T. Acute and sub-acute oral toxicity assessment of the cerium oxide nanoparticles in Wistar rats. *International Journal of Phytopharmacology*. 2014; 5 (1): 46-50.
11. Poma A., Ragnelli A.M., de Lapuente J., Ramos D., Borrás M., Aimola P. et al. In vivo inflammatory effects of ceria nanoparticles on CD-1 mouse: evaluation by hematological, histological, and TEM analysis. *J. Immunol. Res*. 2014. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/jir/2014/361419/> (accessed 8 August 2016).
12. Iefimenko O.Yu., Savchenko I.O., Falalyeyeva T.M., Beregova T.V., Shcherbakov O.B., Ivanov V.K. et al. The changes of the motor function of the stomach and the colon under the action of the nanocrystalline cerium dioxide. *Fiziol. Zh*. 2014; 60 (3): 67-74 (in Russian).
13. Sroslov M.S., Tochilkina L.P., Filatov B.N., Khodykina N.V. Experimental study for assessment of chemical compounds acute toxicity. In: *Nanotoxicology: achievements, problems and prospects: Materials of scientific conference*. Volgograd, 2014; 58-9 (in Russian).
14. Glotov N.V., ed. *Biometriya: Textbook*. L.: LGU; 1982 (in Russian).
15. Spleen, its function. Available at: <http://www.komykak.ru/analiz/selezenka.html> (accessed 9 August 2016) (in Russian).

L.P. Tochilkina, N.V. Khodykina, L.Yu. Bocharova, M.S. Sroslov, V.V. Klauchek, B.N. Filatov

## SUB-CHRONIC TOXICITY OF NANOSIZED CERIUM DIOXIDE

Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology, Federal Medical and Biological Agency of Russia, 400048 Volgograd, Russian Federation

In an experiment on white male rats, systemic toxicity of cerium dioxide nanoparticles in the form of 0.078 M hydrosol was studied. It is found out that a two-month intake of cerium nano dioxide in doses of 50, 10 and 2 mg / kg was followed by the development of toxic dose-dependent resorptive effect. The dose of 2 mg / kg was qualified as a threshold of general toxic effect in sub-chronic experiment.

**Keywords:** cerium dioxide, nanoparticles, hydrosol, rats, toxicity, threshold dose.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

## ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

### ИРИНА ВЛАДИМИРОВНА БЕРЕЗОВСКАЯ

(к 80-летию со дня рождения)



10 декабря 2016 г. исполнилось 80 лет со дня рождения заведующей отделом лекарственной безопасности Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ, доктора медицинских наук, профессора Ирины Владимировны Березовской.

В 1960 г. И.В. Березовская окончила с отличием лечебно-профилактический факультет Казанского государственного медицинского института. С 1960 по 1962 гг. работала старшим лаборантом в лаборатории токсикологии Академии наук ТаССР, с 1962–1969 гг. – ассистент кафедры фармакологии Казанского государственного медицинского института, с 1969–1972 – заведующая лабораторией токсикологии Ангарского Института биофизики МЗ СССР, с 1973 г. по 1976 гг. – заведующая лабораторией лекарственной токсикологии НИИ по биологическим испытаниям химических соединений, с 1988 г. по настоящее время – заведующая отделом лекарственной безопасности Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ (г. Старая Купавна, Московская обл.).

В 1965 г. защитила кандидатскую диссертацию, а в 1986 г. защитила докторскую диссертацию в Военно-медицинской академии (г. Ленинград) по специальности – «токсикология» с присвоением ученой степени доктора медицинских наук. В 2001 г. ей присвоено ученое звание профессора.

И.В. Березовская – автор более 400 печатных работ, в том числе 20 авторских свидетельств и патентов, и соавтор «Руководства по содержанию лабораторных животных в питомниках и экспериментально-биологических клиниках (вивариях)», 2003.

Впервые в стране в соавторстве с коллегами И.В. Березовской разработаны «Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ», утвержденные МЗ СССР в 1985 г.

В составе коллектива авторов ею подготовлен, утвержденный Минмедпромом, нормативный документ «Правила доклинической оценки безопасности фармакологических веществ (GLP)-РД-64-126-91, «Правила доклинических исследований безопасности и эффективности фармакологических веществ» и «Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ», изданные МЗ РФ в 2000 г.

Под руководством И.В. Березовской проведена оценка безопасности более 25 оригинальных лекарственных препаратов и более 150 дженериков.

И.В. Березовской подготовлено 5 учеников, успешно защитивших кандидатские диссертации по специальности «фармакология» и «токсикология».

И.В. Березовская – Председатель комиссии Научного центра экспертизы средств медицинского применения МЗ РФ по биологическим методам контроля качества лекарственных средств с 1991 г.; в настоящее время эксперт Федерального реестра экспертов, постоянный член Ученого Совета ВНИЦ БАВ с 1977 г., член Специализированного Ученого Совета при ВНИЦ БАВ по специальности «фармакология, клиническая фармакология», член Межведомственного Научного совета по токсикологии химических веществ и природных токсинов.

И.В. Березовская принимала активное участие в организации Всесоюзных и Всероссийских научных конференциях по проблемам фармакологии и лекарственной фармакологии. Являлась секретарем Купавинского отделения Всероссийской общественной организации токсикологов (ВООТ), а с 1998 г. – в составе Правления ВООТ.

И.В. Березовская принимала активное участие в работе Бюро по сертификации лекарственных препаратов при Техническом Управлении Минмедпрома и в подготовке технической документации для строительства вивария в ВНИЦ БАВ в соответствии с международными требованиями.

И.В. Березовская многократно представляла отечественную лекарственную токсикологию за рубежом, выступая с докладами и возглавляя отечественные делегации на международных конгрессах по токсикологии (Дания, 1976; ГДР, 1979; Венгрия, 1981; Румыния, 1983; Англия, 1989).

С 1992 г. в течение 15 лет И.В. Березовская возглавляла Фармакологическую комиссию Фармакопейного комитета МЗ РФ, являлась членом Президиума ФК МЗ РФ. С 2009 г. И.В. Березовская является научным редактором научно-практического журнала «Токсикологический вестник».

*Сердечно поздравляем Ирину Владимировну с юбилеем, желаем ей здоровья, благополучия, долгих лет активной творческой жизни.*

*Ученый Совет Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ  
Правление Всероссийской общественной организации токсикологов  
Редколлегия журнала  
«Токсикологический вестник»*

## ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ, ПОМЕЩЕННЫХ В ЖУРНАЛЕ «ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК» В 2016 ГОДУ

- Авдеева О.И., М.Н. Макарова, И.Е. Макаренко, П.В. Буренков, М.Г. Шубина, В.А. Нашкин**  
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОМБИНИРОВАНИЯ БЛОКАТОРА КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ АМЛОДИПИНА С БЛОКАТОРАМИ АНГИОТЕНЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ..... 13 (1)
- О.Н. Антосюк, А.М. Марвин**  
*Drosophila melanogaster* КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА МЕТОТРЕКСАТА (МЕТНОТРЕХАТЕ)..... 45 (4)
- М.В. Белова, К.К. Ильяшенко**  
ОСТРЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТАМИ, ДЕЙСТВУЮЩИМИ ПРЕИМУЩЕСТВЕННО НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ. 31 (5)
- М.В. Бидевкина, О.В. Бакланова, Т.З. Рысина, И.А. Суетина, О.А. Лопатина, Т.Н. Потапова, М.В. Мезенцева, А.В. Лиманцев, Л.И. Руссу, Ж.П. Алексеева**  
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НЕКОТОРЫХ СПИРТОВ И КОЖНЫХ АНТИСЕПТИКОВ НА ИХ ОСНОВЕ ..... 19 (2)
- А.С. Богачева, Е.В. Полозова, И.Н. Ключкин**  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ КИСЛОТ ДЛЯ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ ..... 36 (4)
- В.В. Бортникова, Л.В. Крепкова, Т.А. Гуськова**  
ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА «САНГВИРИТРИН» НА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ ЖИВОТНЫХ ..... 6 (1)
- О.В. Бударина, М.А. Пинигин, Л.А. Федотова, А.Г. Малышева**  
ОБОСНОВАНИЕ МАКСИМАЛЬНОЙ РАЗОВОЙ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛЕТАЧИХ КОМПОНЕНТОВ ВЫБРОСОВ ПРОИЗВОДСТВА ПИЩЕВЫХ АРОМАТИЗАТОРОВ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ ..... 11 (4)
- Н.Г. Венгерович, М.А. Юдин, А.С. Никифоров, Г.С. Сагалов, М.С. Вахвийянен, А.А. Кузьмин**  
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ РЕЦЕПТУРЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ЕЁ КОМПОНЕНТОВ ..... 44 (5)
- В.А. Вокина, Н.Л. Якимова, Л.М. Соседова**  
АНАЛИЗ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КРАТКОВРЕМЕННОЙ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКА ..... 21 (4)
- А.В. Глушкова, А.С. Радилов, С.А. Дулов, Н.С. Хлебникова**  
СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ РИСКА И ГИГИЕНИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЯ НАНОМАТЕРИАЛОВ В РОССИИ И ЕВРОСОЮЗЕ (НА ПРИМЕРЕ НОРВЕГИИ) ..... 31 (6)
- А.А. Дударев, Е.В. Душкина, Ю.Н. Сладкова, В.С. Чупахин, Л.А. Лукичева**  
УРОВНИ ЭКСПОЗИЦИИ К СТОЙКИМ ОРГАНИЧЕСКИМ ЗАГРЯЗНИТЕЛЯМ (СОЗ) НАСЕЛЕНИЯ ПЕЧЕНГСКОГО РАЙОНА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ ..... 2 (3)
- О.М. Журба, Е.А. Капустина**  
ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ ВИНИЛХЛОРИДА НА БЕЛЫХ КРЫС ..... 16 (4)
- П.Ф. Забродский, В.В. Масляков, М.С. Громов**  
МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА К ИНФЕКЦИИ В РАННЕЙ ФАЗЕ СЕПСИСА У МЫШЕЙ ПОСЛЕ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ ..... 21 (5)
- О.Л. Заикина, В.В. Шилов, А.Н. Лодягин, А.М. Григорьев**  
ОСОБЕННОСТИ ОБНАРУЖЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНТАНИЛА В МОЧЕ МЕТОДАМИ ГАЗОВОЙ И ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ..... 46 (3)
- А.В. Земляной, С.Б. Оникненко, А.С. Радилов, Г.А. Баранов, В.В. Хухарев, С.А. Дулов, М.Б. Варлашова, Н.В. Ерунова**  
ПРИМЕНЕНИЕ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ НАНОМАТЕРИАЛОВ ПРИ ПОРАЖЕНИЯХ ВЫСОКОТОКСИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ ..... 36 (6)
- Б.А. Кацнельсон, М.П. Сутункова, Н.А. Цепилов, В.Г. Панов, А.Н. Вараксин, В.Б. Гурвич, И.А. Минигалиева, И.Е. Валамина, О.Г. Макеев, Е.В. Мещерякова**  
О ЕДИНООБРАЗИИ ФЕНОМЕНОЛОГИИ И МАТЕМАТИЧЕСКОГО ОПИСАНИЯ ТАК НАЗЫВАЕМОГО «СОЧЕТАННОГО» ДЕЙСТВИЯ ВРЕДНЫХ ФАКТОРОВ И КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ (НА ПРИМЕРЕ ДЕЙСТВИЯ ФТОРИДА И ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ) ..... 13 (5)
- Л.А. Коваленко, А.В. Алехнович, Г.Н. Суходолова, К.К. Ильяшенко**  
ВЛИЯНИЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ПСИХО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ ..... 2 (2)
- Л.А. Коваленко, Е.М. Усачева, Г.Н. Суходолова, С.И. Страхов**  
К ВОПРОСУ О РАЗВИТИИ АСТЕНИИ У ДЕТЕЙ В СОМАТОГЕННОМ ПЕРИОДЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ПСИХОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИМИ СРЕДСТВАМИ ..... 39 (4)
- Н.Л. Корягина, Е.И. Савельева, А.И. Уколов, Д.С. Прокофьева, Н.С. Хлебникова, Т.И. Орлова, Е.С. Уколова, А.С. Радилов, Н.В. Гончаров**  
ВОЗМОЖНОСТИ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВОМ VR И АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ КАРБОКСИМОМ ..... 8 (2)
- Б.П. Кузьминов, Т.С. Зазуляк, В.А. Туркина, А.А. Брейдак, Т.А. Алехина**  
ОБОСНОВАНИЕ ДОПУСТИМОГО СОДЕРЖАНИЯ ДИАЗОЛИНА В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА ..... 18 (1)
- А.С. Лунёв, К.А. Петросова, М.В. Жукова, К.Э. Терновская, О.Е. Клементьева, Н.П. Лысенко**  
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЛИОФИЛИЗАТОВ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА <sup>68</sup>Ga-ЦИТРАТ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ГРЫЗУНАХ ..... 21 (1)
- П.В. Макаров, Л.В. Погорельская**  
НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ САЛЬМОНЕЛЛЕЗОМ И НЕИНФЕКЦИОННЫМ ГАСТРОЭНТЕРИТОМ, СВЯЗАННЫМ С ТОКСИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ АЛКОГОЛЯ ..... 24 (4)
- И.А. Минигалиева**  
НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ ..... 18 (6)
- Е.В. Плешакова, М.В. Каневский, С.И. Юлаева, А.А. Галицкая, С.А. Коннова, О.В. Семячкина-Глушковская**  
ДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И СВЕТОВОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ..... 22 (3)
- Н.П. Подосиновикова, М.Л. Александрова, П.А. Качерович, Н.В. Лапина**  
ВТОРИЧНОЕ ПОРАЖЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ (100 СУТОК) ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГАЗОВОГО ОРУЖИЯ ..... 2 (1)
- Е.В. Полозова, В.В. Шилов, А.С. Богачева, Е.В. Давыдова**  
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ УГАРНЫМ ГАЗОМ ..... 38 (3)
- Л.И. Привалова, Б.А. Кацнельсон, В.Б. Гурвич, И.А. Минигалиева, М.П. Сутункова, О.Г. Макеев, И.Е. Валамина, В.Я. Шур, Е.В. Григорьева, Клинова С.В., Е.В. Шишкина**  
О НЕКОТОРЫХ ПРИНЦИПАХ И СПОСОБАХ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА К ВРЕДНЫМ ЭФФЕКТАМ МЕТАЛЛОСодержаЩИХ НАНОЧАСТИЦ ..... 4 (6)
- Д.С. Прокофьева, В.И. Шмурак, А.Е. Кривошеин, Е.А. Бодрякова, Н.Г. Войтенко**  
ЭСТЕРАЗНЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ МЫШЕЙ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ 2-(О-КРЕЗИЛ)-4Н-1,3,2-БЕНЗОДИОКСОФОСФОРИН-2-ОКСИДОМ ..... 25 (2)
- Л.Г. Пьянова, В.А. Лихолобов, А.В. Седанова**  
ЭФФЕКТИВНЫЕ И БЕЗОПАСНЫЕ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ УГЛЕРОДНЫЕ СОРЕБЕНТЫ МЕДИЦИНСКОГО И ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ НАНОГЛОБУЛЯРНОГО УГЛЕРОДА . 25 (6)

**В.Н. Ракитский, С.С. Пашин**

НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ НООПЕПТА НА МОДЕЛИ  
 ФОКАЛЬНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА  
 37 (2)

**Л.М. Соседова, М.А. Новиков, Е.А. Титов**

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АПОПТОЗ-РЕГУЛИРУЮЩИХ БЕЛКОВ  
 В НЕЙРОНАХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОСЕРЕБРА,  
 ИНКАПСУЛИРОВАННОГО В ПОЛИМЕРНУЮ МАТРИЦУ ..... 48 (6)

**К.И. Стосман, Л.В. Луковникова**

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА У ЛИЦ, ПРОФЕССИОНАЛЬНО  
 КОНТАКТИРУЮЩИХ С БЕРИЛЛИЕМ..... 26 (5)

**М.П. Сутункова**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ И МЕТОДИЧЕСКИЕ  
 СООБРАЖЕНИЯ К ОБОСНОВАНИЮ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ  
 КОНЦЕНТРАЦИИ ЖЕЛЕЗО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ В ВОЗДУХЕ  
 РАБОЧЕЙ ЗОНЫ ..... 11 (6)

**П.Г. Толкач, В.А. Башарин, А.А. Колобов, Н.Ю. Роговская,**

**В.Н. Бабаков**

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА КК1 НА СОДЕРЖАНИЕ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА  
 В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСЛЕ ОСТРОЙ ТЯЖЕЛОЙ  
 ИНТОКСИКАЦИИ ОКСИДОМ УГЛЕРОДА ..... 10 (3)

**Л.П. Точилкина, Н.В. Ходыкина, Л.Ю. Бочарова, М.С. Срослов,**

**В.В. Клаучек, Б.Н. Филатов**

СУБХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА  
 ЦЕРИЯ..... 54 (6)

**К.И. Усов, Т.А. Гуськова, Г.Г. Юшков, А.В. Машанов**

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЖИВОТНЫХ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ  
 ГРУПП К ИЗОНИАЗИДУ В УСЛОВИЯХ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО  
 ЭКСПЕРИМЕНТА..... 36 (5)

**К.И. Усов, Т.А. Гуськова, Г.Г. Юшков, А.В. Машанов**

ВЛИЯНИЕ ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИХ РИТМОВ НА ТОКСИЧНОСТЬ  
 ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА «ИЗОНИАЗИД» В УСЛОВИЯХ  
 ЭКСПЕРИМЕНТА ..... 31 (2)

**Л.М. Фатхутдинова, Т.О. Халиуллин, Р.Р. Залялов, Е.Р. Кисин,**

**А.А. Шведова**

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ЭКСПОЗИЦИЙ И МЕДИКО-  
 БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ  
 НАНОТРУБОК: ОБЗОР СЕРИИ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ...42 (6)

**Д.А. Халютин, Р.А. Тарумов, А.А. Ховпачёв, В.Л. Рейнюк,**

**А.Е. Антушевич, А.Н. Гребенюк**

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ  
 ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ГОЛОВНОГО МОЗГА  
 И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТЯЖЕЛОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТИЛОВЫМ  
 СПИРТОМ ..... 28 (4)

**Д.А. Халютин, Т.С. Соловьёва, В.Л. Рейнюк, А.А. Ховпачев,**

**В.С. Чирский, А.Е. Антушевич, А.Н. Гребенюк**

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ГОЛОВНОГО  
 МОЗГА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТАНОЛОМ И ИХ КОРРЕКЦИИ  
 ПЕПТИДНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ..... 15 (3)

**Х.Х. Хамидулина, Е.В. Дорофеева**

МАТЕРИАЛЫ К ОБОСНОВАНИЮ НАЦИОНАЛЬНОГО ПЕРЕЧНЯ  
 ОПАСНЫХ ВЕЩЕСТВ, ОКАЗЫВАЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЕ  
 НА РАЗВИВАЮЩИЙСЯ ОРГАНИЗМ ПРИ ЛАКТАЦИИ ..... 2 (5)

**Т.В. Харченко, Л.Г. Аржавкина, А.В. Язенок, Д.И. Сиячкин,**

**А.Н. Жекалов**

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ПЕРСОНАЛА ОБЪЕКТОВ  
 ХРАНЕНИЯ И УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ ..... 41 (3)

**А.В. Швецов, Е.Г. Батоцыренова, Н.А. Дюжикова, В.А. Кашуро,**

**Н.В. Лапина, В.Б. Долго-Сабуров, М.Б. Иванов**

ИССЛЕДОВАНИЕ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТИОПЕНТАЛА  
 НАТРИЯ И ДЕЛЬТА-СОН ИНДУЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА НА  
 АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ КРЫС..... 49 (5)

**Н.И. Шеина, Э.Г. Скрыбина, Ю.П. Пивоваров, Е.В. Буданова,**

**Л.И. Мялина, В.В. Королик, В.В. Колесникова, Л.П. Сазонова,**

**Г.Г. Чуб**

ПРОБЛЕМА БИОБЕЗОПАСНОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ  
 МИКРООРГАНИЗМОВ В РОССИИ: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ .... 2 (4)

**В.В. Шилов, В.А. Лукин, А.Ю. Андрианов**

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ  
 ПЛАЗМАФЕРЕЗА С ПОМОЩЬЮ ИНФУЗИОННОГО АНТИГИПОКСАНТА  
 ЦИТОФЛАВИНА ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ АЗАЛЕПТИНОМ.. 28 (3)

□ Из практики

**В.В. Шилов, В.А. Лукин, В.Е. Савелло, А.М. Антонова,**  
**Л.П. Пивоварова, И.В. Осипова, А.В. Рикова, С.С. Гайдук**  
 КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ПАЦИЕНТА-НАРКОКУРЬЕРА  
 С ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ ГЕРОИНОМ..... 31 (1)

**В.В. Шилов, А.Н. Лодягин, В.А. Лукин, Л.П. Пивоварова,**

**А.Ю. Андрианов, Б.В. Батоцыренов, М.М. Ермолаева,**  
**О.А. Кузнецов, С.И. Глушков, С.А. Повзун, О.Э. Заев**  
 ОСТРОЕ ПЕРОРАЛЬНОЕ ОТРАВЛЕНИЕ ХЛОРИДОМ НАТРИЯ  
 (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)..... 47 (3)

□ Экологическая токсикология

**В.С. Безель, С.В. Мухачева**

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДАННЫХ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ  
 ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МЕЛКИХ  
 МЛЕКОПИТАЮЩИХ ..... 36 (1)

**Г.А. Даллакян, Е.Ф. Исакова, Д.М. Гершкович**

ДЕЙСТВИЕ ШУНГИТА НА РАКООБРАЗНЫХ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА  
 ТОКСИЧНОСТЬ БИХРОМАТА КАЛИЯ..... 53 (5)

**В.И. Ипатова, А.Г. Дмитриева, Т.В. Дрозденко**

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ СОЛЕЙ  
 И НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ДЛЯ МИКРОВОДОРОСЛИ SCENEDESMUS  
 QUADRICAUDA ..... 45 (2)

**Р.А. Ложкина, И.И.Томилина**

ВЛИЯНИЕ ЛАНТАНА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ  
 ВЕТВИСТОУСОГО РАЧКА *Ceriodaphnia affinis* В ХРОНИЧЕСКОМ  
 ЭКСПЕРИМЕНТЕ ..... 42 (1)

**Ж.В. Маркина, Н.А. Айздайчер**

СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ  
 И РОСТ МИКРОВОДОРОСЛИ PSEUDO-NITZSHIA PUNGENS  
 (VASCILLARIOPHYTA) В ПРИСУТСТВИИ БИХРОМАТА  
 КАЛИЯ ..... 41 (2)

**Д.В. Микряков, Н.И. Силкина, В.Р. Микряков**

НЕКОТОРЫЕ ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ  
 ЗОЛОТОГО КАРАСЯ *CARASSIUS CARASSIUS* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ  
 СУБЛЕТАЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ МЕДИ..... 49 (4)

**Г.А. Папченкова**

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ  
 ИМИДАКЛОПРИДСОДЕРЖАЩИХ ИНСЕКТИЦИДОВ  
 НА *DAPHNIA MAGNA* ..... 52 (3)

□ Юбилейные даты

**Березовская Ирина Владимировна** ..... 62(6)

**Гребенюк Александр Николаевич** ..... 47 (1)

**Кацнельсон Борис Александрович** ..... 62 (5)

**Новиков Сергей Михайлович** ..... 61 (5)

**Остапенко Юрий Николаевич** ..... 49 (1)

**Софронов Генрих Александрович** ..... 59 (5)

**Шафран Леонид Моисеевич** ..... 51 (1)

□ Съезды, конференции, совещания ..... 56 (2), 57 (3), 56 (4)

□ Новые сведения о токсичности и опасности химических  
 и биологических веществ

**Н.М. Митрохин, М.И. Голубева, И.Н. Разумная, С.А. Фастов,**  
**И.С. Фастов**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПО ИЗУЧЕНИЮ ТОКСИЧНОСТИ И  
 ОПАСНОСТИ АЛЮМОСИЛИКАТНЫХ НАНОТРУБОК..... 52 (2)

**Н.И. Шеина, Э.Г. Скрыбина, Л.И. Мялина, Е.В. Буданова,**

**Л.П. Сазонова, В.В. Колесникова, Г.Г. Чуб**

МИКРООРГАНИЗМ *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS*  
 OPS-32..... 54 (4)

□ Новые публикации по токсикологии и смежным

дисциплинам..... 53 (1), 58 (2), 59 (4)

□ Нам спрашивают ..... 56 (1)