

УДК 544.773:546.57:57.044:613.2615.9

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛОСодержаЩИХ НАНОЧАСТИЦ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ЭКСПОЗИЦИИ: БИОНАКОПЛЕНИЕ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ

*Статья в виде доклада была заслушана на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения".

Н.В. Зайцева^{1,2},
М.А. Землянова¹,
В.Н. Звездин¹,
А.А. Довбыш¹

¹ФБУН ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, 614045, г. Пермь, Российская Федерация
²ГБОУ УВО Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России, 614990, г. Пермь, Российская Федерация

Проведено исследование бионакопления и морфофункциональных нарушений металлосодержащих наночастиц на примере потенциально опасных для здоровья нанодисперсного оксида марганца и никеля при различных условиях экспозиции (размер частиц 15-29 и 17-45 нм соответственно). В качестве сравнения использованы микроразмерные аналоги, размер частиц которых в 300-1300 раз больше. Установлено, что металлосодержащие наночастицы при внутрижелудочной и ингаляционной экспозиции обладают более высокой проникающей способностью и низкой эффективностью выведения из организма (в 14-39 раз); профиль «критических» органов включает головной мозг, печень, селезенку, легкие; обуславливают функциональные нарушения критических систем и органов-мишеней (в виде нарушения баланса показателей окислительно-антиоксидантных процессов и нейромедиаторов при воздействии нанодисперсного MnO), имеющие дозозависимый характер. Большая степень выраженности морфологических изменений в системе кровообращения, макрофагальной и лимфатической системах, а также наличие изменений в ткани печени, головного мозга и сердца, не выявленные при экспозиции микродисперсных аналогов, подтверждают большую повреждающую способность металлосодержащих наночастиц и зависимость степени выраженности патологического процесса от размера частиц.

Ключевые слова: металлосодержащие наночастицы, потенциальная опасность, экспозиция, экспериментальное исследование, бионакопление, морфофункциональные изменения.

Введение. На сегодняшний день отмечается стремительный рост мирового развития и коммерциализации продукции нанотехнологий и нанотехнологий в общей производственной цепочке, относящихся к сегменту рынка новых технологий (6-й технологический уклад) [1]. По данным Экспертов Исследовательской Службы Конгресса США (Congressional Research Service) мировая промышленность использует нанотехнологии в процессе производства как минимум

80 групп потребительских товаров, в том числе электроника, одежда, косметическая продукция, фармпрепараты, продукты питания, бытовая техника (www.nanotechproject.org/inventories/consumer), свыше 600 видов сырьевых материалов, комплектующих изделий и промышленного оборудования. Прогнозируемый объем прорывных направлений на мировом рынке наноразработок составляет 1,5 трлн. долл. к 2020 году. В России, по данным национальной нанотехно-

Зайцева Нина Владимировна (Zaitseva Nina Vladimirovna), доктор медицинских наук, академик РАН, директор ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, znv@fcrisk.ru

Землянова Марина Александровна (Zemlyanova Marina Aleksandrovna), доктор медицинских наук, заведующий отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, zem@fcrisk.ru;

Звездин Василий Николаевич (Zvezdin Vasilii Nikolaevich), кандидат медицинских наук, заведующий отделом гигиены детей и подростков ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, zvezdin@fcrisk.ru;

Довбыш Анастасия Александровна (Dovbysh Anastasia Aleksandrovna), токсиколог лаборатории метаболизма и фармакокинетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь dovnyastja@yandex.ru.

логической сети, перечень производимых наноматериалов включает свыше 200 наименований. По данным Research.Techart, наиболее развитый коммерческий сегмент российской наноиндустрии – нанопорошки [2].

Значительная доля производства нанотехнологической продукции (наноматериалы, нанoinструменты, наноприборы), нанотехнологий и наноматериалов базируется на использовании металлосодержащих наночастиц. К числу перспективных в этом плане, имеющих широкое приложение в практической деятельности человека, относятся нанодисперсные оксиды никеля, марганца, кобальта (20 % произведенной продукции, относящейся к сфере электроприборостроения, нанооптики, биодиагностики, нанохимии [3, 4]), серебро (до 500 т/год продукции наноиндустрии фармакологической, медицинской, легкой, химической, пищевой отраслей промышленности [5]).

Интенсивное формирование нанокластеров за рубежом и в РФ, развитие сегментов мирового рынка нанопродуктов в разрезе группы «Наноматериалы», рост коммерческих применений в ключевых отраслях (аэрокосмосе, здравоохранении, биотехнологиях, энергетике, электронике и информационных технологиях, обрабатывающей промышленности, в потребительском секторе [1]) диктует необходимость системного развития работ по изучению потенциальных угроз в сфере жизнедеятельности человека, связанных с широкомасштабным распространением нанотехнологий и нанобиотехнологий. Несмотря на неоспоримые инновационные качества наноматериалы, в том числе металлосодержащие наночастицы, в силу особых физико-химических свойств могут представлять определенную опасность для здоровья человека на всех этапах производства и потребления продукции, для объектов среды обитания и вызывать в будущем серьезные социально-экономические последствия [6]. В связи с этим, исследования, проводимые рядом отечественных научных центров, занимают значимое место по числу работ в этой области [7-10]. Особое внимание уделяется выявлению связи между физическими свойствами (такими, как размер, форма, структура поверхности, степень агрегации) наноматериалов, в том числе металлосодержащих наночастиц, с индукцией токсического ответа в биологических структурах [11-13]. Данное направление на протяжении многих лет активно развивается в ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», в рамках которого выполняется уточнение и систематизация недостаточно изученных физических свойств и особенностей токсического воздействия ряда широко распространенных металлосодержащих наночастиц при ингаляционном и пероральном путях поступления в организм.

Целью исследований являлась токсиколого-гигиеническая оценка бионакопления и морфофункциональных особенностей воздействия некоторых металлосодержащих наночастиц при ингаляционной и пероральной экспозиции.

Материалы и методы исследования

Детальные экспериментальные исследования выполнены на примере частиц нанодисперсного оксида марганца (MnO) и оксида никеля (NiO), предварительная оценка которых по комплексу физико-химических, молекулярно-биологических, биохимических, цитологических, токсикологических характеристик, представленных в аннотируемых источниках литературы и полученных на основании собственных ранее проведенных исследований [10], свидетельствует об их высокой степени потенциальной опасности для здоровья человека с достоверной степенью оценки информации (критерий «частной» опасности $D = 1,8-1,83$ соответствует диапазону 1,78-2,449 – «высокая степень опасности», коэффициент достоверности оценки $U = 0,134$ соответствует 0-0,25 – «достоверный» в соответствии с МР 1.2.2522-09). Преобладающий средний поперечный размер частиц исследуемых образцов (до 95 % от общего количества частиц) в наноразмерной фазе водной суспензии MnO 15-29 нм, NiO – 17-45 нм, что до 1300 и 330 раз меньше размера частиц соответствующих микродисперсных аналогов (рис. 1).

Удельная площадь поверхности ($S_{\text{ВЕТ}}$) наноразмерных частиц, рассчитанная по методу Брунауэра, Эммета и Тейлора [14], MnO $150,2 \pm 2,6$ м²/г (на 20% больше аналогичного показателя у частиц микродисперсного аналога), NiO $120,6 \pm 2,3$ м²/г (в 44,4 раза больше). Тестируемые образцы относятся к нерастворимым в воде соединениям [15]. Адсорбционная емкость частиц 10200,0-10580,0 мг/г (до 30 раз выше адсорбционной емкости микродисперсных аналогов) [16]. Концентрации Mn и Ni в водной суспензии, установленные методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на масс-спектрометре Agilent 7500сх с октопольной реакционной/столкновительной ячейкой (Agilent Technologies Inc, США), составляли $41,37 \pm 2,5$ мг/мл и $50,0 \pm 3,4$ мг/мл (в пересчете на MnO и NiO соответственно).

Исследование функциональных и морфологических изменений выполнено на примере водной суспензии MnO при 90-дневном внутрижелудочном поступлении через зонд в диапазоне доз 1/10-1/500 LD₅₀ на лабораторных животных (крысы самцы и самки линии Wistar массой 200±10 г, n=100, 4 опытных и 1 контрольная группы) в соответствии с ГОСТ 32644-2014 и МУ 1.2.2520-09. Оценка функциональных нарушений выполнена по изменению биохимических показателей функции нейронов ЦНС и баланса окислительно-антиоксидантной системы с использованием

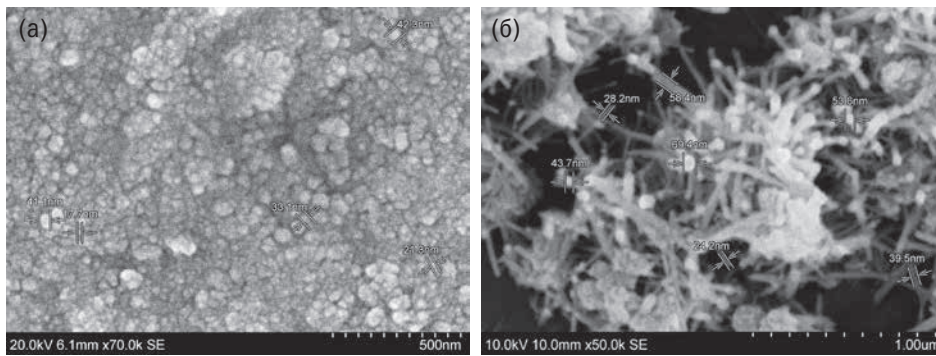


Рис. 1 – Изображение частиц нанодисперсных оксидов металлов с помощью сканирующей электронной микроскопии: а) NiO, б) MnO

автоматического иммуноферментного микропланшетного анализатора Infinite-F50 (Tecan, Австрия). Соотношение основных нейромедиаторов исследовали по содержанию глутамата («возбуждающий» нейромедиатор) и γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) («тормозной» нейромедиатор) в сыворотке крови (наборы реагентов Immundiagnostik, Германия). Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию продуктов ПОЛ – гидроперекиси липидов (набор Biomedica, Словацкая республика) и малонового диальдегида (МДА); антиоксидантной системы – по содержанию Cu/Zn-супероксиддисмутазы (Cu/ZnСОД) (набор eBioscience, Австрия), общего антиоксидантного статуса (ОАС) (набор Immundiagnostik, Германия) в сыворотке крови. Морфологические изменения тканей (головного мозга, сердца, легких, селезенки, печени, почек, желудка и поджелудочной железы, желудка, тонкой и толстой кишки) оценивали при микроскопировании гистологических препаратов (увеличение 10x40), приготовленных в соответствии с принятой технологией на оборудовании Thermo Scientific и Carl Zeiss (Германия).

Исследование и оценка бионакопления (материальной кумуляции в ткани головного мозга, поч-

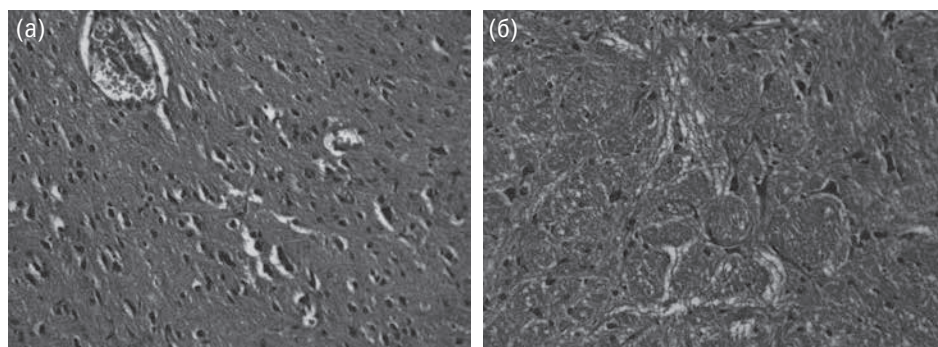


Рис. 2 – Кора больших полушарий крысы при внутрижелудочном введении нанодисперсного MnO в дозе 50 мг/кг массы тела/сутки, 90-й день эксперимента: а – расширенные периваскулярные и перичеселлюлярные пространства в слоях коры головного мозга крысы, б – истончённые нервные волокна в коре больших полушарий крысы. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10x40

ках, печени, легких, крови) и морфологических изменений висцеральных органов (сердца, легких, селезенки, печени, почек, желудка и поджелудочной железы, желудка, тонкой и толстой кишки) выполнена на примере водной суспензии NiO при острой ингаляционной экспозиции (белые мыши самцы и самки линии BALB/C массой 25-30 г, n=30) в соответствии ГОСТ 32646-2014, межгосударственным стандартом (OECD, Test No403:2008, IDT), МУ 1.2.2520-09. Определение концентрации Ni (в пересчете на NiO) в ткани головного мозга, почках, печени, легких, крови выполнено методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7500cx (США). Моделирование ингаляционной экспозиции выполнено в Ингаляционной системе с интегрированным программным обеспечением с использованием камеры для всего тела (TSE Systems GmbH, Германия). Генерирование аэрозоля нанодисперсного NiO осуществляли в заданной концентрации 40 мг/см³. Фактическую концентрацию в воздухе ингаляционной камеры оценивали методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7500cx (США). Отбор проб воздуха в камере выполнен на фильтр АФА-ВГ-10-1 со скоростью 2 л/мин в течение 5 минут через 2 и 4 часа экспозиции, определение концентрации частиц в воздухе камеры – с использованием диффузионного аэрозольного спектрометра (Аэронанотех, Россия).

Исследования и процедуры выполнены согласно руководствам и нормативным документам (ГОСТ З 51000.3-96 и 51000.4-96; Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123); Приказ МЗ РФ № 708 от 23.08.2010. Правила лабораторной практики (GLP)). Животных выводили из эксперимента с соблюдением требований Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1997).

Результаты и обсуждение. Исследование и оценка уровня показателей

Таблица 1

Биохимические показатели функционального состояния окислительно-антиоксидантных процессов и процессов возбуждения и торможения в нейронах ЦНС у крыс линии Wistar при внутрижелудочной экспозиции водной суспензии нанодисперсного MnO

Доза, мг/кг массы тела/ сутки	Показатель (M±m)			
	ОАС (мкмоль/л)	Cu/ZnСОД (нг/мл)	Гидроперекиси липидов (мкмоль/л)	МДА (мкмоль/мл)
30 день				
Исходный уровень показателя	174,1±10,13	5,01±1,01	30,76±2,64	1,62±0,20
Контроль	164,26±8,29	5,20±1,01	32,07±3,04	1,60±0,12
260,0	31,95±3,35*^	1,10±0,04*^	62,21±5,50*^	3,12±0,01*^
50,0	75,36±6,94*^	2,67±0,36*^	48,88±6,07*^	2,74±0,29*^
10,0	68,97±4,73*^	3,67±0,25*^	46,71±5,67*^	2,61±0,34*^
5,0	153,21±5,13	5,12±0,13	33,12±3,03	1,72±0,51
60 день				
Контроль	173,95±4,64	5,28±0,51	32,08±0,19	1,59±0,16
260,0	35,51±4,69*^	2,23±0,25*^	35,34±4,39	3,15±0,22*^
50,0	68,14±12,76*^	3,38±0,32*^	68,23±12,61*^	2,50±0,34*^
10,0	68,87±7,35*^	4,15±0,32*^	91,35±8,24*^	2,34±0,45*^
5,0	164,8±6,20	5,20±1,01	32,07±3,04	1,69±0,15
90 день				
Контроль	163,5±7,3	5,12±0,13	33,12±3,03	1,73±0,19
260,0	31,95±3,35*^	2,05±0,39*^	62,2±9,58*^	3,24±0,29*^
50,0	68,97±6,21*^	4,78±0,27*^	44,86±3,25*^	2,44±0,20*^
10,0	99,42±4,73*^	3,61±0,17*^	46,71±0,22*^	2,25±0,52*^
5,0	157,5±10,9*	5,17±0,13	32,12±2,11	1,75±0,22
	Глутамат (мкмоль/л)		ГАМК (мкмоль/л)	
90 день				
Исходный уровень	242,1±18,2		0,32±0,03	
Контрольная	243,4±33,2		0,31±0,04	
260,0	917,5±117,6*^		0,14±0,02*^	
50,0	607,5±56,7*^		0,12±0,04*^	
10,0	474,8±82,3*^		0,13±0,02*^	
5,0	254,1±12,2		0,30±0,02	

Примечание: *p<0,05 в сравнении со значением уровня показателя перед началом эксперимента
^p<0,05 в сравнении со значением уровня показателя контрольной группы

баланса нейромедиаторов и окислительно-антиоксидантной системы при длительной экспозиции нанодисперсного MnO свидетельствует о наличии функциональных нарушений, имеющих дозозависимый эффект. В дозах 10,0-260,0 мг/кг на 30-й день эксперимента зарегистрировано достоверное повышение в сыворотке крови гидроперекиси липидов и МДА относительно исходного уровня и показателей контрольной группы в 1,4-1,9 и 1,6-2,0 раза соответственно ($p < 0,001$). На 90-й день сохранялся повышенный уровень гидроперекиси липидов и МДА в сыворотке крови, кратность различий с исходным уровнем и показателями в контроле составила 1,3-1,9 раза ($p < 0,001$). В дозе 5,0 мг/кг не установлено достоверных различий показатели с исходным уровнем и с контролем в течение всего эксперимента (табл. 1). Оценка показателей активности антиоксидантной системы свидетельствует, что у крыс в дозах 10,0-260,0 мг/кг регистрируется достоверное снижение уровня Cu/ZnСОД и ОАС в сыворотке крови, имеющее дозозависимый характер. В течение всего эксперимента уровень Cu/ZnСОД зарегистрирован сниженным относительно исходного уровня и контроля в среднем от 1,4 до 4,6 раза ($p < 0,001-0,002$), уровень ОАС в 1,6-5,4 раза ($p < 0,001$). У крыс в дозе 5 мг/кг уровень ОАС не имел достоверных отличий от показателя в контрольной группе в течение всего эксперимента.

Оценка содержания основных нейромедиаторов в сыворотке крови у экспериментальных животных на 90-й день эксперимента показала достоверное повышение глутамата и снижение ГАМК относительно исходного уровня и контроля, при этом изменение показателей имело дозозависимый характер. Повышение уровня глутамата установлено от 2 до 3,8 раза в зависимости от дозы ($p < 0,001$). Снижение ГАМК в сыворотке крови зарегистрировано в 2,3-2,7 раза ($p < 0,001$). У крыс в дозе 5,0 мг/кг достоверного снижения анализируемых показателей в сыворотке крови относительно контроля не установлено.

Установлены морфологические изменения структуры тканей головного мозга, также имеющие зависимость от дозы водной суспензии нанодисперсного MnO. В наибольшей дозе (260 мг/кг массы тела/сутки) в коре больших полушарий и мозжечке выявлено резкое полнокровие сосудов с диapedезом эритроцитов и формированием очаговых субарахноидальные кровоизлияний; отёк головного мозга с расширением периваскулярных и перицеллюлярных пространств; очаги демиелинизации нервных волокон. В дозе 50 мг/кг формируются очаговые расширения периваскулярных и перицеллюлярных пространств в слоях коры головного мозга с сохранением их дифференцировки (рис. 2а). Сосуды вещества

анализируемых тканей тонкостенные, умеренно кровенаполнения, эндотелий уплощен, имеются очаговые мелкие субарахноидальные кровоизлияния и участки очаговой дистрофии нейронов (рис. 2б). В дозе 10 мг/кг массы тела/сутки установлено незначительное расширение периваскулярных пространств (рис. 3а). При экспозиции в дозе 5 мг/кг морфологическая картина тканей головного мозга и мозжечка соответствует контрольной группе (рис. 3б) и характеризуется сохранением рисунка строения во всех отделах.

Большая степень выраженности токсических эффектов подтверждается распространённостью и степенью выраженности патоморфологических изменений тканей внутренних органов при внутрижелудочном введении нанодисперсного MnO в дозе 10 мг/кг в течение 90 дней. Установлены более выраженные изменения в системе кровообращения (в виде гемодинамических расстройств с очаговым слабым и умеренным полнокровием сосудов в головном мозге, печени, легких, почек, сердца; субарахноидальных кровоизлияний в головном мозге), лимфатической (в виде слабо и умеренно выраженных периваскулярных лимфо-макрофагальных инфильтратов в ткани легких с переходом на прилежащие альвеолы) и макрофагальной (в виде активации альвеолярных макрофагов с образованием небольших скоплений в просветах альвеол) системах по сравнению с изменениями при введении микроразмерного аналога (в виде очагового полнокровия сосудов, субарахноидальных кровоизлияний в головном мозге, мелких очаговых лимфо-макрофагальных инфильтратов в легких, желудочно-кишечном тракте). Кроме этого, установлено расширение периваскулярных и перицеллюлярных пространств в головном мозге, слабо выраженный периваскулярный нежноволокнистый кардиосклероз и слабо выраженная очаговая белковая дистрофия гепатоцитов, не установленные при введении микродисперсного аналога.

Исследование проникающей способности нанодисперсного NiO после 4-х часовой ингаляционной экспозиции в виде аэрозоля показало, что нанодисперсный NiO (в фактической концентрации NiO $1,34 \pm 0,07$ мг/дм³ и в абсолютной концентрации частиц 140194 ± 27768 ед./дм³) обладает большей проникающей способностью в 14-39 раз по сравнению с микродисперсным аналогом ($p = 0,0001$) (табл. 2).

Подтверждением меньшей эффективности введения нанодисперсных частиц NiO относительно микродисперсного аналога являются патоморфологические изменения в ткани легких у мышей, проявляющиеся в виде очаговой периваскулярной и перибронхиальной лимфоидной инфильтрации с примесью макрофагов и эозинофилов, не уста-

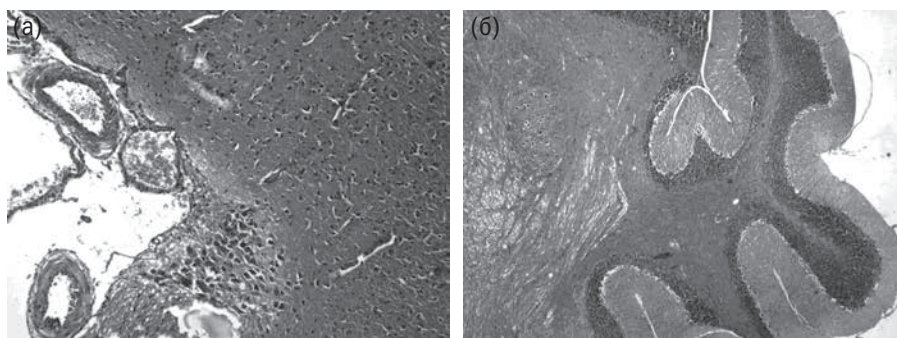


Рис. 3. – 90-й день эксперимента при внутривенном введении нанодисперсного MnO: а – кора больших полушарий крысы, доза 10 мг/кг массы тела /сутки, увеличение 10x10; б – мозжечок крысы, доза 5 мг/кг, увеличение 10x10. Окраска гематоксилин-эозином

новленные в легких при экспозиции микродисперсного NiO (рис. 4). Морфологических изменений ткани головного мозга, селезенки, почек, сердца, печени, поджелудочной железы, желудка, тонкого и толстого кишечника относительно контроля в группах № 1 и № 2 не установлено.

Полученные результаты позволили дать характеристику возможного механизма токсического действия исследуемых металлсодержащих наночастиц. Пусковым механизмом воздействия нанодисперсного MnO при внутривенном введении может являться активация ПОЛ в результате прямого повреждающего действия наночастицами билипидного слоя цитоплазматической мембраны [17]. Данный эффект проявляется на системном уровне увеличением уровня гидроперекисей липидов, МДА, что приводит к снижению активности антиоксидантных процессов [18] (снижение уровня Cu/ZnСОД и ОАС в сыворотке крови). При этом, клетками-мишенями для нанодисперсного MnO при внутривенной и ингаляционной экспозиции являются астроциты и мембраны нейронов [19]. Это может быть обусловлено способностью нанодисперсных частиц MnO, как и других металлов, проникать из желудочно-кишечного тракта в кровь и в последующем – в клетки-мишени. Из кровяного русла нано-

частицы MnO при поступлении через капиллярные эндотелиальные клетки гематоэнцефалического барьера достигают и накапливаются в клетках головного мозга – астроцитах [19]. Поврежденные астроциты могут утрачивать способность захватывать и обезвреживать избыточные количества «возбуждающей» аминокислоты – глутамата, что способствует эксайтотоксическому эффекту (увеличение уровня глутамата и снижение ГАМК в сыворотке крови). Морфологические

изменения тканей головного мозга в виде расширения периваскулярного и перичеллюлярного пространства и демиелинизация нервных волокон в коре больших полушарий подтверждают патогенетическое действие наночастиц MnO, установленное при оценке биохимических показателей. Развитие дегенеративных изменений может быть обусловлено прямым окислительным воздействием наночастиц на нейроны, клетки глии и эндотелий сосудов при непосредственном контакте наночастиц с тканями головного мозга, что свидетельствует о вероятном преодолении гематоэнцефалического барьера.

Характер морфологических изменений в легких, выявленный при острой ингаляционной экспозиции нанодисперсного NiO, подтверждает ранее выявленный эффект, связанный с активацией клеточно-фагоцитарных механизмов защиты [20]. Можно предположить, что наночастицы NiO активно накапливаются в легочной ткани не только благодаря высокой проникающей способности, но и активации фагоцитов, активная миграция которых может обуславливать формирование перибронхиальных инфильтратов. Проникновение наночастиц в кровь непосредственно во время экспозиции может быть обусловлено альвеолярно-капиллярной диффу-

Таблица 2

Сравнительная оценка концентрации NiO в легких и крови экспериментальных животных после 4-часовой ингаляционной экспозиции нано- и микродисперсной суспензии NiO

Группа животных	Концентрация (M±m)		Межгрупповое различие с контролем (p)	
	в легких, мкг/г	в крови, мкг/дм ³		
Группа № 1, экспонирована нанодисперсным NiO	8089,88±3586,9	141,10±33,7	0,0012	0,0001
Группа № 2, экспонирована микродисперсным NiO	206,03±50,95	10,23±1,16	0,0001	0,0001
Группа № 3 (контроль)	30,20±4,58	6,25±0,64	-	-

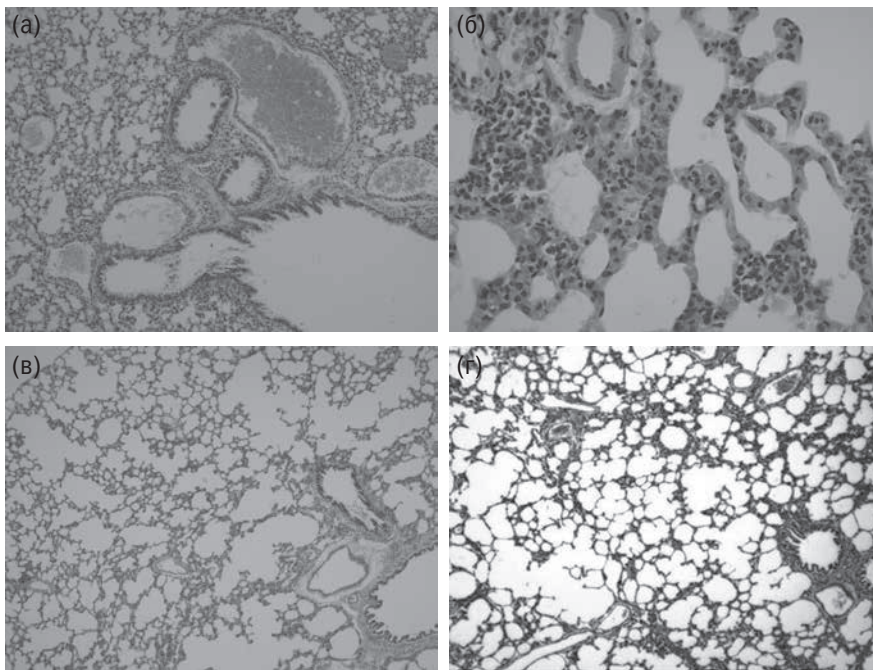


Рис. 4. Бронхи мышей линии BALB/C (окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10×40). Наибольшие морфологические изменения установлены в бронхах мышей опытной группы № 1 (а, б) относительно группы сравнения № 2 (в) и контрольной группы (г). В стенках бронхов (а) наличие перибронхиальных слабо и умеренно выраженных лимфо-эозинофильных инфильтратов. Воспалительный инфильтрат распространяется на прилежащие к бронхам альвеолы (а, б). Визуализируются эозинофилы с ярко розовой цитоплазмой и мультилобулярными базофильными ядрами (б); участки эндоцитоза (а). Стенка бронхов крыс группы сравнения (в) и контрольной группы (г) ровная без утолщений и явлений эндоцитоза, просветы бронхов чистые, контуры сохранены

зией. Дальнейшая миграция частиц может быть обусловлена миграцией фагоцитов из перибронхиальных пространств.

Заключение. Отличительные свойства физических параметров наночастиц (размер, удельная площадь поверхности, адсорбционная емкость, заряд частиц), в том числе металлосодержащих, потенциально увеличивают способность к проникновению через тканевые барьеры, реакционную

способность степени выраженности патологического процесса от размера частиц.

Полученные результаты экспериментальных исследований необходимо учитывать при разработке программ мониторинга и профилактики, направленных на снижение или устранение негативных последствий воздействия металлосодержащих наноматериалов и продукции на здоровье работающих и населения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Результаты анализа наноиндустрии в рамках ТС и ЕЭП (аналитический материал). 2014. Available at: <http://www.nanonewsnet.ru/news/2015/rezultaty-analiza-nanoindustrii-v-ramkakh-ts-eeep> (дата обращения: 15.08.2016).
2. Рынок нанотехнологий в России. 2014. Available at: <http://nanodigest.ru/content/view/574/39> (дата обращения: 15.08.2016).
3. Килимник А.Б., Острожкова Е.Ю. Электрохимический синтез нанодисперсных порошков оксидов металлов. Тамбов: Изд-во ФГБОУ ВПО «ТТУ»; 2012: 144 с.
4. Horie M., Fukui H., Endoh S., Maru J., Miyauchi A., Shichiri M. et al. Comparison of acute oxidative stress on rat lung induced by nano and fine-scale, soluble and insoluble metal oxide particles: NiO and TiO₂. *Inhalation Toxicology*. 2012; 24(7): 391-400.
5. Fabrega J., Luoma S.N., Tyler C.R., Galloway T.S., Lead J.R. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ. Int.* 2011; 37(2): 517-531.
6. Онищенко Г.Г. Стратегия безопасности в наноиндустрии. Здоровье населения и среда обитания. 2011; 5: 4-8.
7. Потапов А.И., Ракитский В.Н., Тулакин А.В., Луценко Л.А., Ильницкая А.В., Егорова А.М. и др. Безопасность наночастиц и наноматериалов для окружающей и производственной среды. Гигиена и санитария. 2013; 3: 8-14.
8. Тутьян В.А., Хотимченко С.А., Гмошинский И.В., Шумакова А.А., Располов Р.В. Комплексная медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов: информационно-аналитическая и экспериментальная составляющие. Здоровье населения и среда обитания. 2011; 5: 15-18.
9. Кацнельсон Б.А., Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Сулункова М.П., Гурвич В.Б., Шур В.Я. и др. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и ее ослабление биопротекторной премедикацией. *Токсикологический вестник*. 2014; 6: 8-14.
10. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Akafieva T.I., Saenko E.V. Acute inhalation toxicity of manganese oxide nanoparticles. *Nanotechnologies in Russia*. 2015; 10(5-6): 468-474.
11. Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Сулункова М.П., Гурвич В.Б., Минигалиева И.А., Логинова Н.В. и др. Основные результаты токсикологических экспериментов «in vivo» с некоторыми металлическими и металлооксидными наночастицами. *Токсикологический вестник*. 2015; 3: 26-38.
12. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Зvezdin V.N., Довбыш А.А., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А. и др. Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра, стабилизированного поливинилпирролидоном, в 92-дневном эксперименте на крысах. II. Морфология внутренних органов. *Вопросы питания*. 2016; 85(1): 47-55.
13. Зибарев Е.В., Чашин М.В., Кузьмин А.В., Никонова С.М., Кусраева З.С. Биомаркеры ингаляционного воздействия наноразмерных аэрозолей. *Здоровье населения и среда обитания*. 2011; 5: 21-23.
14. Грег С., Синг К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость. М: Мир, 1984: 306 с.
15. Nickel (II) oxide nanopowder, <50 nm particle size (TEM), 99.8% trace metals: material safety data sheet (MSDS) (2014). Available at: <http://www.sigmaaldrich>.

com/catalog/product/aldrich/637130?lang=en®ion=RU (дата обращения: 15.08.2016).

16. Li L.H., Xiao J., Liu P., Yang G.W. Super adsorption capability from amorphousization of metal oxide nanoparticles for dye removal. *Scientific Reports*. 2014; 5: 4-9.

REFERENCES:

1. The results of the analysis of the nanotechnology industry in the framework of the Customs Union and the Common Economic Space (analytical data). 2014. Available at: <http://www.nanonewsnet.ru/news/2015/rezultaty-analiza-nanoindustrii-v-ramkakh-ts-ee-p> (Accessed 15 August 2016) (in Russian).

2. The market of nanotechnologies in Russia. 2014. Available at: <http://nanodigest.ru/content/view/574/39> (Accessed 15 August 2016) (in Russian).

3. Kilimnik A.B., Ostrozhkova E.Ju. Electrochemical synthesis of nano-dispersed metal oxide powders. *Tambov: IZD-VO FGBOU VPO «TGU»*; 2012: 144 p. (in Russian).

4. Horie M., Fukui H., Endoh S., Maru J., Miyauchi A., Shichiri M. et al. Comparison of acute oxidative stress on rat lung induced by nano and fine-scale, soluble and insoluble metal oxide particles: NiO and TiO₂. *Inhalation Toxicology*. 2012; 24(7): 391-400.

5. Fabrega J., Luoma S.N., Tyler C.R., Galloway T.S., Lead J.R. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ. Int.* 2011; 37(2): 517-531.

17. Sárközi L., Horváth E., Kónya Z., Kiricsi I., Szalay B., Vezér T. et al. Subacute intratracheal exposure of rats to manganese nanoparticles: behavioral, electrophysiological, and general toxicological effects. *Inhal Toxicol.* 2009; 21(1): 83-91.

18. Frick R., Müller-Edenborn B., Schlicker

6. Onishhenko G.G. Security Strategy in the nanotechnology industry. *Zdorov'e naselenija i sreda obitanija*. 2011; 5: 4-8.

7. Potapov A.I., Rakitskij V.N., Tulakin A.V., Lucenko L.A., Il'nickaja A.V., Egorova A.M. et al. Safety of nanoparticles and nanomaterials for environmental and working environment. *Gigijena i sanitarija*. 2013; 3: 8-14.

8. Tutel'jan V.A., Hotimchenko S.A., Gmoshinskij I.V., Shumakova A.A., Raspopov R.V. Comprehensive medical and biological safety assessment of nanomaterials: informational, analytical and experimental components. *Zdorov'e naselenija i sreda obitanija*. 2011; 5: 15-18.

9. Kacnel'son B.A., Minigaliev A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ja. et al. The reaction of the deep airways of rat on a single intratracheal administration of nickel oxide nanoparticles and manganese, or combinations thereof, and its weakening bioprotektornoy premedication. *Toksikologicheskij vestnik*. 2014; 6: 8-14.

10. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Akafieva T.I., Saenko E.V. Acute inhalation toxicity of manganese oxide

Rothen-Rutishauser B., Raemy O.D., Günther D. et al. Comparison of manganese oxide nanoparticles and manganese sulfate with regard to oxidative stress, uptake and apoptosis in alveolar epithelial cells. *Toxicol Lett.* 2011; 205: 163-72.

19. Diana M. Neurotoxicity of manganese

nanoparticles. *Nanotechnologies in Russia*. 2015; 10(5-6): 468-474.

11. Kacnel'son B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Minigaliev A., Lognova N.V. et al. The main results of toxicological experiments "in vivo" with some metal and metal oxide nanoparticles. *Toksikologicheskij vestnik*. 2015; 3: 26-38.

12. Zajceva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Dovbysh A.A., Gmoshinskij I.V., Hotimchenko S.A. et al. Toxicological evaluation of nano-sized colloidal silver stabilized with polyvinylpyrrolidone in a 92-day experiment on rats. II. Morphology viscera. *Voprosy pitanija*. 2016; 85(1): 47-55.

13. Zibarev E.V., Chashhin M.V., Kuz'min A.V., Nikonova S.M., Kusraeva Z.S. Biomarkers of exposure by inhalation of nanoscale aerosols. *Zdorov'e naselenija i sreda obitanija*. 2011; 5: 21-23.

14. Greg S., Sing K. Adsorption, the specific surface area, porosity. Moscow: Mir, 1984: 306 c.

15. Nickel (II) oxide nanopowder, <50 nm particle size (TEM), 99.8% trace metals: material safety data sheet (MSDS). 2014.

oxide nanomaterials. *J. Nanopart.* 2009; 11: 1957-69.

20. Fröhlich E.L. Cellular Targets and Mechanisms in the Cytotoxic Action of Non-biodegradable Engineered Nanoparticles. *Current Drug Metabolism*. 2015; 9: 976-988.

Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/637130?lang=en®ion=RU> (Accessed 15 August 2016).

16. Li L.H., Xiao J., Liu P., Yang G.W. Super adsorption capability from amorphousization of metal oxide nanoparticles for dye removal. *Scientific Reports*. 2014; 5: 4-9.

17. Sárközi L., Horváth E., Kónya Z., Kiricsi I., Szalay B., Vezér T. et al. Subacute intratracheal exposure of rats to manganese nanoparticles: behavioral, electrophysiological, and general toxicological effects. *Inhal Toxicol.* 2009; 21(1): 83-91.

18. Frick R., Müller-Edenborn B., Schlicker A., Rothen-Rutishauser B., Raemy O.D., Günther D. et al. Comparison of manganese oxide nanoparticles and manganese sulfate with regard to oxidative stress, uptake and apoptosis in alveolar epithelial cells. *Toxicol Lett.* 2011; 205: 163-72.

19. Diana M. Neurotoxicity of manganese oxide nanomaterials. *J. Nanopart.* 2009; 11: 1957-69.

20. Fröhlich E.L. Cellular Targets and Mechanisms in the Cytotoxic Action of Non-biodegradable Engineered Nanoparticles. *Current Drug Metabolism*. 2015; 9: 976-988.

N.V. Zaitseva^{1,2}, M.A. Zemlyanova¹, V.N. Zvezdin¹, A.A. Dovbysh¹.

TOXICOLOGICAL AND HYGIENE CHARACTERIZATION OF SOME METAL-CONTAINING NANOPARTICLES AT VARIOUS EXPOSITION METHODS: BIOACCUMULATION AND EXPOSURE MORPHOFUNCTIONAL FEATURES

¹Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 614045 Perm, Russian Federation
²Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, RF Ministry of Health, 614990, Perm, Russian Federation

Bioaccumulation and morphofunctional disorders induced by metal-containing nanoparticles were investigated on the example of potentially hazardous to health nanodispersed manganese and nickel oxides under various exposition conditions (particles size of 15-29 and 17-45 nanometers respectively). As a comparison, micro dimensional analogs which particles size was 300- to 1300- fold bigger were used. It was established that metal-containing nanoparticles at intragastric and inhalation exposure had higher penetration power and low removal efficiency from the organism (14- to 39-fold lower); the profile of "critical" organs includes brain, liver, spleen, lungs; metal-containing NPs cause functional disorders in critical systems and target organs (in the form of disrupted balance in indicators of oxidative and antioxidant processes and neurotransmitters under effect of nano dispersed MnO), these disorders having dose-dependent character. A great degree of expressiveness of morphological changes in the blood circulatory system, macrophagal and lymphoid systems, and also the presence of changes in the tissue of liver, brain and heart not revealed uniuir exposition to microdispersed analogs prove a big damaging ability of metal-containing nanoparticles and dependence of expressiveness degree of pathological process on the size of particles.

Keywords: metal-containing nanoparticles, potential hazard, exposition, experimental study, bioaccumulation, morphofunctional changes.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.