

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

PROCEEDINGS OF THE CONFERENCE

II All-Russian Research and Practical Conference
with International Participation

CURRENT HYGIENIC ASPECTS OF NANOTOXICOLOGY:

Theoretical Foundation, Identification
and Mitigation of Health Hazard

October 20 -21

2021

Yekaterinburg

20 -21 октября

2021

Екатеринбург

Вторая Всероссийская научно-практическая
очно-заочная конференция с международным участием
**АКТУАЛЬНЫЕ ГИГИЕНИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ НАНОТОКСИКОЛОГИИ:**
теоретические основы, идентификация опасности
для здоровья и пути ее снижения



Екатеринбург/ Yekaterinburg
2021

УДК 613/614:615.9:620.3
ББК 51.2+52.84
С56

Редакционная коллегия:

д-р мед. наук, проф. *А. Ю. Попова*
д-р мед. наук *М. П. Сутункова*
д-р мед. наук, проф. *Б.А. Кацнельсон*
д-р мед. наук *В. Б. Гурвич*
д-р мед. наук, проф. *Л.И. Привалова*
д-р мед. наук, проф. *Э.Г. Плотко*
д-р биол. наук *И.А. Минигалиева*
канд. мед. наук *А.А. Федорук*

С56 *Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения:*
Материалы Второй Всероссийской научно-практической очно-заочной конференции с международным участием (г. Екатеринбург, 20-21 октября 2021 года) / под ред. А. Ю. Поповой. — Екатеринбург: ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 2021. — 79 с. — ISBN 978-5-93025-131-9. — Текст: электронный.

Сборник научных работ по итогам Второй Всероссийской научно-практической очно-заочной конференции с международным участием «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути её снижения» включает в себя публикации тезисов по самым актуальным направлениям нанотоксикологии, среди которых рассмотрены вопросы безопасности наноматериалов с точки зрения гигиенических проблем, общих закономерностей токсикокинетики и токсикодинамики наночастиц, накопления наночастиц в различных органах, принципы оценки генотоксичности наноматериалов, сравнительного токсического действия наночастиц, экспериментально-токсикологической оценки некоторых наночастиц и др.

Научно-практический сборник предназначен для специалистов органов и учреждений Роспотребнадзора, практикующих врачей, преподавателей, работающих в сфере охраны здоровья населения, студентов медицинских вузов, молодых ученых.

УДК 613/614:615.9:620.3
ББК 51.2+52.84

Сборник включен в аналитическую базу данных «Российский индекс научного цитирования».

За содержание статей ответственность несут авторы. Редакция оставляет за собой право сокращать объем публикуемых материалов. Все материалы публикуются впервые, перепечатка — только с письменного разрешения редакции. Эксклюзивные материалы являются собственностью ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

ISBN 978-5-93025-131-9 © ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора

**Приветственное слово руководителя Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека А.Ю.
Поповой участникам Второй Всероссийской научно-практической
очно-заочной конференции с международным участием «Актуальные
гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы,
идентификация опасности для здоровья и пути её снижения»**



Уважаемые коллеги!

Одной из значимых проблем современности в охране здоровья населения становится загрязнение окружающей среды мелкодисперсными, в том числе наноразмерными, частицами как инженерного в составе промышленных аэрозолей, так и природного происхождения, влияющими на повышенную заболеваемость и смертность. Продолжающиеся развитие промышленности и рост индустриального использования и широкого применения наноматериалов в самых разнообразных сферах медицины, фармакологии, косметологии, пищевого производства и др. обосновывает изучение и оценку воздействия наночастиц на состояние здоровья населения и разработку соответствующих мер профилактики и безопасности. В настоящее время Екатеринбургский медицинский - научный центр является одним из признанных лидеров в Российской Федерации и широко известным за рубежом центром по изучению особенностей вредного действия наночастиц на организм и связанных с ним рисками для здоровья в целях разработки мероприятий по управлению ими.

В связи с значимостью проблемы Роспотребнадзором на базе Екатеринбургского медицинского - научного центра проводится Вторая Всероссийская научно-практическая очно-заочная конференция с международным участием «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути её снижения». Помимо этого, мероприятие посвящено Году науки и технологий в Российской Федерации.

На конференции будут рассмотрены гигиенические вопросы, связанные с разработкой и внедрением в практику методов идентификации и количественного определения наночастиц в воздухе и других средах для

обоснования и контроля безопасности уровня воздействия наночастиц на организм, организации мониторинга и соответствующих мер профилактики. Особое внимание будет уделено проблемам применения современных экспериментальных методов изучения механизмов токсического действия наночастиц. Важный акцент для обсуждения планируется уделить методам управления риском для здоровья, создаваемого наночастицами, и подходам к профилактике их вредного действия, в т.ч. с использованием биопрофилактических комплексов.

Поздравляю с открытием конференции! Желаю всем плодотворной работы в созидательной и творческой атмосфере, дальнейших успехов в научной и практической деятельности, постоянного профессионального совершенствования!

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный Государственный
санитарный врач Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор



А.Ю. Попова

СОДЕРЖАНИЕ

Антонов В.А., Жуков В.Е., Фролова И.Г., Великородная Ю.И., Горкина И.К. ТОКСИКОКИНЕТИКА И ТОКСИКОДИНАМИКА МИКРО- И НАНОФОРМ АЛЮМИНИЯ	8
Анциферова А.А., Копаева М.Ю., Кочкин В.Н., Кашкаров П.К. НАКОПЛЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ	9
Габидинова Г.Ф., Фатхутдинова Л.М. ПРИНЦИПЫ ОЦЕНКИ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ НАНОМАТЕРИАЛОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO	11
Герцен О.П., Набиев С.Р., Клинова С.В., Минигалиева И.А., Кацнельсон Б.А., Никитина Л.В. СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ И НАНОЧАСТИЦ СВИНЦА И КАДМИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИОЗИНА В РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ СЕРДЦА КРЫС	13
Гетте И.Ф., Остроушко А.А., Данилова И.Г., Тонкушина М.О. СРАВНЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОКЛАСТЕРНЫХ ЖЕЛЕЗО- МОЛИБДЕНОВЫХ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ И СМЕСИ СОСТАВЛЯЮЩИХ ИХ КОМПОНЕНТОВ	15
Грынчак В.А., Сычик С.И. АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КОМПЛЕКСНОЙ ТОКСИКОЛОГО- ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ НАНОМАТЕРИАЛОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ	17
Доча Анка Оана, Калина Даниэла ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА IN VIVO	19
Зиновкина В.Ю., Василькевич В.М., Богданов Р.В., Гурская Н.А. ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА МАГНИЯ В СУБХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ	20
Клинова С.В., Минигалиева И.А., Сутункова М.П., Панов В.Г., Проценко Ю.Л., Кацнельсон Б.А. КАРДИОВАЗОТОКСИЧНОСТЬ СВИНЕЦ- И КАДМИЙ-СОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦ	22
Ковалевский Е.В., Бухтияров И.В., Кашанский С.В., Цхомария И.М. МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ КОНТРОЛЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУХА НАНОЧАСТИЦАМИ НА ПРИМЕРЕ ПРИРОДНЫХ НАНОТРУБОК	24
Колобанов А.И., Шумакова А.А., Соколов И.Е., Гмошинский И.В. ВЛИЯНИЕ ПЕРОРАЛЬНО ВВОДИМЫХ ЧАСТИЦ НАНОГЛИНЫ НА ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ОРГАНОВ ЖИВОТНЫХ И ДРУГИЕ ПОКАЗАТЕЛИ	26

Масленников А.А., Демидова С.А., Новикова О.Н., Антонов В.А. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ОБЩЕСАНИТАРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОДЫ ВОДОЕМОВ	28
Привалова Л.И., Сутункова М.П., Минигалиева И.А., Гурвич В.Б., Макеев О.Г., Валамина И.Е., Бушуева Т.В., Клинова С.В., Рябова Ю.В., Соловьева С.Н., Проценко Ю.Л., Никитина Л.В., Герцен О.П., Кацнельсон Б.А. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА К ВРЕДНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭЛЕМЕНТНЫХ И ЭЛЕМЕНТНО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ	30
Рябова Ю.В., Привалова Л.И., Минигалиева И.А., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Макеев О.Г., Бушуева Т.В., Сахаутдинова Р.Р., Клинова С.В., Соловьева С.Н., Тажигулова А.В., Кацнельсон Б.А. ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА СЕЛЕНА НА ОРГАНИЗМ	31
Ситников И.А., Шаихова Д.Р., Амромина А.М., Сутункова М.П., Рябова Ю.В., Тажигулова А.В., Рузаков В.О. СНИЖЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРА NMDA В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА МЕДИ	33
Соловьева С.Н., Сутункова М.П., Привалова Л.П., Минигалиева И.А., Гурвич В.Б., Чернышов И.Н., Кацнельсон Б.А. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ АЭРОЗОЛЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ СУЩЕСТВЕННУЮ ФРАКЦИЮ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ	35
Тажигулова А.В., Рябова Ю.В., Минигалиева И.А., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Клинова С.В., Соловьева С.Н., Лабзова А.К., Минигалиева Р.Ф., Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А. ОЦЕНКА РЕАКЦИИ ГЛУБОКИХ ОТДЕЛОВ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ КРЫС НА ИНТРАТРАХЕАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА И МЕДИ	36
Фатхутдинова Л.М., Тимербулатова Г.А. МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОБОСНОВАНИЯ БЕЗОПАСНЫХ УРОВНЕЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИСКУССТВЕННЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ (НА ПРИМЕРЕ КОРПОРАТИВНОГО НОРМАТИВА)	38
Шур В.Я., Шишкина Е.В., Пряхина В.И., Лисьих Б.И., Кузнецов Д.К., Сутункова М.П., Кацнельсон Б.А. СОЗДАНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИИ В ЖИДКОСТИ ДЛЯ НАНОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	40
Antonov V.A., Zhukov V.Ye., Frolova I.G., Velikorodnaya Yu.I., Gorkina I.K. TOXICOKINETICS AND TOXICODYNAMICS OF ALUMINUM MICRO- AND NANOFORMS	42
Antsiferova A.A., Kopaeva M.Yu., Kochkin V.N., Kashkarov P.K. ACCUMULATION OF SILVER NANOPARTICLES IN MAMMALIAN BRAIN AND THEIR INFLUENCE ON COGNITIVE FUNCTIONS	43

Gabidinova G.F., Fatkhutdinova L.M. PRINCIPLES OF ASSESSING GENOTOXICITY OF CARBON-BASED NANOMATERIALS IN VITRO	45
Gertsen O.P., Nabiev S.R., Klinova S.V., Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Nikitina L.V. COMPARATIVE ANALYSIS OF EFFECTS OF LEAD AND CADMIUM SALTS AND NANOPARTICLES ON FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF MYOSIN IN HEART CHAMBERS OF RATS	46
Gette I.F., Ostroushko A.A., Danilova I.G., Tonkushina M.O. COMPARISON OF TOXIC EFFECTS OF NANOCUSTER IRON-MOLYBDENUM POLYOXOMETALATES AND A MIXTURE OF THEIR COMPONENTS	48
Hrynychak V.A., Sychik S.I. CURRENT ISSUES OF COMPREHENSIVE TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC ASSESSMENT OF NANOMATERIALS FOR MEDICAL APPLICATIONS	50
Docea Anca Oana, Calina Daniela IN VIVO TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SILVER NANOPARTICLES	51
Zinovkina V.Yu., Vasilkevich V.M., Bogdanov R.V., Gurskaya N.A. FEATURES OF THE BIOLOGICAL ACTION OF MAGNESIUM OXIDE NANOPARTICLES IN A SUBCHRONIC EXPERIMENT	52
Klinova S.V., Minigalieva I.A., Sutunkova M.P., Panov V.G., Protsenko Y.L., Katsnelson B.A. CARDIO- AND VASOTOXICITY OF LEAD AND CADMIUM NANOPARTICLES	54
Kovalevskiy E.V., Bukhtiyarov I.V., S.V. Kashanskiy, Tskhomariia I.M. METHODOLOGICAL PROBLEMS OF AIR POLLUTION CONTROL BY NANOPARTICLES ON THE EXAMPLE OF NATURAL NANOTUBES	56
Kolobanov A.I., Shumakova A.A., Sokolov I.E., Gmoshinski I.V. EFFECT OF ORALLY ADMINISTERED NANOCCLAY PARTICLES ON THE ELEMENTAL COMPOSITION OF ANIMAL ORGANS AND OTHER INDICATORS	58
Maslennikov A.A., Demidova S.A., Novikova O.N., Antonov V.A. EXPERIMENTAL EVALUATION OF EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES ON GENERAL SANITARY CHARACTERISTICS OF WATER IN WATER BODIES	59
Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigalieva I.A., Gurvich V.B., Makeyev O.G., Valamina I.E., Bushueva T.V., Klinova S.V., Ryabova Yu.V., Solovyova S.N., Protsenko Yu.L., Nikitina L.V., Gertsen O.P., Katsnelson B.A. EXPERIMENTAL AND THEORETICAL ASPECTS OF INCREASING BODY RESISTANCE TO ADVERSE EFFECTS OF ELEMENTAL AND ELEMENT OXIDE NANOPARTICLES	61
Ryabova Yu.V., Privalova L.I., Minigalieva I.A., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Makeyev O.G., Bushueva T.V., Sakhautdinova R.R., Klinova S.V., Solovyeva S.N., Tazhigulova A.V., Katsnelson B.A. FEATURES OF HEALTH EFFECTS OF SELENIUM OXIDE NANOPARTICLES	62

Sitnikov, I.A. Shaikhova D.R., Amromina A.M., Sutunkova M.P., Ryabova Yu.V., Tazhigulova A.V., Ruzakov V.O. A DECREASE IN THE GENE EXPRESSION PATTERN OF NMDA RECEPTOR IN THE RAT HIPPOCAMPUS FOLLOWING INTRAPERITONEAL ADMINISTRATION OF COPPER OXIDE NANOPARTICLES	64
Solovyova S.N., Sutunkova M.P., Privalova L.I., Minigalieva I.A., Gurvich V.B., Chernyshov I.N., Katsnelson B.A. EXPERIMENTAL CHARACTERISTICS OF TOXICITY AND HAZARD OF INDUSTRIAL AEROSOLS CONTAINING A SIGNIFICANT FRACTION OF SILICA NANOPARTICLES	65
Tazhigulova A.N., Ryabova Yu.V., Minigalieva, I.A. Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Klinova S.V., Solovyova S.N., Labzova A.K., Minigalieva R.F., Privalova L.I., Katsnelson B.A. EVALUATION OF RESPONSE OF THE RAT LOWER AIRWAYS TO INTRATRACHEAL INSTILLATION OF SELENIUM AND COPPER NANOPARTICLES	67
Fatkhutdinova L.M., Timerbulatova G.A. METHODOLOGICAL FOUNDATIONS OF THE RATIONALE FOR SAFE LEVELS OF EXPOSURE TO ENGINEERED NANOMATERIALS (ON THE EXAMPLE OF THE CORPORATE STANDARD)	68
Shur V.Ya., Shishkina E.V., Pryakhina V.I., Lisyikh B.I., Kuznetsov D.K., Sutunkova M.P., Katsnelson B.A. SYNTHESIS OF NANOPARTICLES FOR NANOTOXICOLOGICAL RESEARCH BY LASER ABLATION IN LIQUID	70
РЕЗОЛЮЦИЯ Второй всероссийской научно-практической очно-заочной конференции с международным участием «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути её снижения»	72

В.А. Антонов, В.Е. Жуков, И.Г. Фролова, Ю.И. Великородная,
И.К. Горкина

ТОКСИКОКИНЕТИКА И ТОКСИКОДИНАМИКА МИКРО- И НАНОФОРМ АЛЮМИНИЯ

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России), г. Волгоград, Россия

Санитарно-гигиенический мониторинг предприятий, использующих порошкообразный алюминий, свидетельствует о том, что в воздухе рабочей зоны наряду с микроразмерными частицами присутствуют и наночастицы алюминия, доля которых может достигать 88 %. В связи с необходимостью оценки рисков для здоровья, связанных с потенциальной опасностью нанотехнологий, представлялось целесообразным получение сравнительных токсикологических характеристик частиц вещества обеих размерностей.

Объектами исследования являлись алюминиевые порошки L-ALEXTM и АСД-1 с дисперсностью 82,3 нм и 2,4 мкм соответственно. Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах. Вещество в обеих размерностях применяли однократно интратрахеально в количествах 10,0 и 50,0 мг на одну особь, что соответствовало дозам 40,0 и 200,0 мг/кг. Тестирование животных осуществляли в динамике.

Установлено, что через сутки после введения вещества в меньшей дозе остаточная массовая доля микро и нано-алюминия (микро-Al и нано-Al) в легких равнялась 28,1 и 53,1 % соответственно. При поступлении вещества в дозе 200,0 мг/кг остаточное количество микроформы составляло 57,0 %, а наноформы – 62,3 %. В последующие периоды регистрировалось статистически достоверное снижение содержания только нано-Al.

Для характеристики скорости самоочищения легочной ткани использовали коэффициент легочного клиренса (мг/час), сопоставление величин которых выявило наличие прямой зависимости от уровня воздействия обеих форм вещества.

Интратрахеальное введение микро-алюминия сопровождалось увеличением коэффициента относительной массы легких на 7 и 14 сутки (доза 200,0 мг/кг). Применение нано-порошка в обеих дозах вызывало изменение показателя, начиная с первых суток.

Результаты гистологического исследования легочной ткани продемонстрировали, что у всех животных, которым вводили микро-Al,

формировались гранулематозные образования от единичных до множественных, в зависимости от дозы. В свою очередь, нано-Al инициировал развитие быстро прогрессирующей интерстициально-гранулематозной формы алиоза с формированием эпителиоидноклеточных и гигантоклеточных гранул при всех испытанных уровнях воздействия. Помимо легочной ткани, частицы нано-Al локализовались и в лимфатических узлах средостения у подопытных крыс после введения как на уровне 40,0 мг/кг, так и 200,0 мг/кг, тогда как частицы микронного размера регистрировались в лимфоидной ткани только у животных, получавших вещество в максимальной дозе.

Выводы:

1. Независимо от уровня воздействия и размерности частиц алюминия наибольшее количество вещества выводится из легких в течение первых суток;
2. Скорость элиминации как нанодисперсного, так и микродисперсного алюминия прямо пропорциональна уровню воздействия;
3. Алюминий в наноразмерной форме инициирует более выраженные морфоструктурные изменения в легочной и лимфоидной тканях, в сравнении с микродисперсными частицами.

УДК615.9:615.099.092:577:669.22:616.8-009:57.084.1

А.А. Анциферова¹, М.Ю. Копаева¹, В.Н. Кочкин¹,
П.К. Кашкаров^{1,2}

НАКОПЛЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ

¹НИИ «Курчатовский институт», г. Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
г. Москва, Россия

Серебро используется с древних времен в медицинских целях благодаря своим антисептическим свойствам. Так, в индусской (аюрведической и религиозной) литературе упоминается об обеззараживании воды путем погружения в неё раскаленного серебра, либо при длительном контакте с металлическим серебром при нормальных условиях. Известно использование уникальных свойств серебра рыцарями ордена госпитальеров. Так, в XVI веке, в частности, благодаря использованию серебряной посуды, которая помогала предотвратить

кишечные инфекции, им удалось отразить попытку захвата острова Мальта турками-османами. После 1800 г. помимо металлического серебра стали применяться его соли (ляпис) и коллоидное серебро (протаргол, аргирол). В настоящее время широко распространено использование наночастиц серебра в пищевой, легкой и фармацевтической промышленности, а также в медицине. Они применяются в составе биологически-активных добавок, в качестве покрытий для раневых повязок, в упаковочных материалах, в качестве консерванта для пищевых продуктов, в текстильных товарах и т.д. Соединения серебра, в том числе, их наночастицы способны оказывать токсическое действие не только на патогены, но и на здоровые клетки. Механизм токсического действия серебра, как правило, связывают, с генерацией активных форм кислорода его ионами. При этом, наночастицы серебра, по всей видимости, могут оказывать пролонгированное действие в виде депо для ионов. Поэтому важно понимать потенциальные риски от применения таких наночастиц.

В настоящей работе было исследовано влияние длительного перорального введения наночастиц серебра на когнитивные функции лабораторных млекопитающих, а также получена кривая накопления серебра в головном мозге и его отделах и изучены гистопатологические характеристики.

Материалы. Исследовали биологически активную добавку на основе наночастиц серебра размером 34 ± 5 нм и стабилизированных поливинилпирролидоном.

В качестве модели млекопитающих использовали мышей-самцов линии C57Bl/6. Животные содержались в индивидуальных клетках в течение всего эксперимента. Введение серебра осуществлялось в течение 30, 60, 120 и 180 суток в составе питьевой воды в количестве 50 мкг/сутки/животное. Контрольные мыши получали деионизованную воду.

Методы. Распределение наночастиц серебра по размерам и устойчивость растворов определялась методом динамического рассеяния света. Для изучения когнитивных функций использовалась модель условно-рефлекторного замирания, которая позволяла оценить долговременную контекстуальную память. Содержание серебра в головном мозге и его отделах (гиппокамп, мозжечок, кора и остаток) определялось методом нейтронно-активационного анализа по активности изотопа ^{110m}Ag . Для осуществления гистопатологических исследований образцы мозга окрашивались крезильовым фиолетовым по Нисслю и проводилось их изучение при помощи световой микроскопии.

Результаты. Зависимость массы серебра в головном мозге от времени введения представляет собой монотонно возрастающую функцию. По всей видимости, ожидаемое насыщение не достигается на исследованных временах введения. Также, было определено, что серебро накапливается во

всех рассмотренных отделах головного мозга. Относительно высокие концентрации содержания серебра наблюдались в гиппокампе и остаточной части мозга. Гистопатологические исследования показали, что, начиная со 120 суток введения наночастиц, наблюдалось разрыхление области СА2 гиппокампа. После 180 суток введения наночастиц было обнаружено снижение долговременной контекстуальной памяти.

Выводы. Длительное пероральное введение наночастиц может быть небезопасно и приводить к необратимым изменениям. По всей видимости, накопление серебра в головном мозге и разрыхление области СА2 стало следствием, в конечном итоге, когнитивных нарушений. Также причиной изменения когнитивных функций могут быть эффекты на общеорганизменном уровне.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 21-315-70016).

УДК 615.9:577:575.224.46

Г.Ф. Габидинова, Л.М. Фатхутдинова
ПРИНЦИПЫ ОЦЕНКИ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ
УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ НАНОМАТЕРИАЛОВ В
ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

Введение новых наноматериалов в промышленность требует понимания влияния этих материалов на окружающую среду и здоровье человека. Основное беспокойство вызывает вопрос генотоксического действия наноматериалов на клетки.

Генотоксичность описывает свойство химических или физических агентов, которые могут изменять генетическую информацию. Генотоксические события могут быть временными или могут привести к мутациям в количестве или структуре генетического материала в клетке. Когда мутация присутствует в зародышевой клетке, она передается следующему поколению и может вызвать генетическое заболевание. В соматических клетках мутация критического гена может привести к раку. Таким образом, каждый мутаген считается потенциально канцерогенным.

Различают прямые и косвенные механизмы генотоксичности наноматериалов (НМ). НМ, захваченные клетками, могут вступать в прямой контакт с генетическим материалом, физически или химически

вызывая повреждение. Однако наиболее вероятный механизм генотоксичности, вызванной НМ, является косвенным, через промежуточные биомолекулы. Ключевой косвенный механизм генотоксичности, вызванной НМ, - окислительный стресс. Индукция активных форм кислорода (АФК) НМ может вызывать повреждение ДНК и других клеточных компонентов. Эти два механизма являются первичными. Вторичные механизмы генотоксичности опосредуются внеклеточными АФК через воспалительные реакции макрофагов и нейтрофилов. Кроме этого, малый размер и свойства наноматериалов могут обуславливать действие специфических механизмов: в случае нанотрубок существуют исследования, демонстрирующие их способность имитировать под микротрубочки, тем самым нарушая процесс деления клеток.

Принципы тестирования на генотоксичность, установленные для химических соединений, используются и для изучения наноматериалов. Но они требуют оптимизации и особого внимания к некоторым деталям. Например, обязательными являются физико-химическая характеристика наноматериала, исследование захвата наночастиц клетками и в целом изучение механизмов генотоксичности.

Физико-химическую характеристику наноматериалов проводят с помощью микроскопических методов высокого разрешения, рентгеноструктурного анализа, масс-спектрометрии. Для анализа суспензий применяют такие методы, как динамическое рассеяние света, анализ траекторий наночастиц, электрофоретическое рассеяние света.

Перед проведением тестирования на генотоксичность необходимо знать цитотоксичность тестируемых НМ, чтобы выбрать соответствующий диапазон концентраций. Наиболее важные и значимые тесты основаны на определении жизнеспособности клеток. Популярным является МТТ-тест – колориметрический тест, оценивающий метаболическую активность клеток. Кроме него, жизнеспособность можно определять с помощью микроскопии, проточной цитометрии, определения лактатдегидрогеназы.

Только после предварительных этапов можно приступить к оценке генотоксичности. Набор тестов должен охватывать повреждения ДНК, генные мутации, хромосомные повреждения как чувствительные точки генотоксичности. Тест на мутацию генов млекопитающих *in vitro*, обычно проводится с использованием клеток лимфомы мышей, выявляет широкий спектр генетических повреждений, включая делецию генов. Наиболее распространенным тестом для выявления хромосомных повреждений является анализ микроядер *in vitro*. Разрывы цепей ДНК чаще всего оцениваются с помощью теста ДНК-комет.

Целью нашего исследования является изучение потенциальной генотоксичности и ее механизмов при воздействии углеродных нанотрубок

разных типов, произведенных на российских инновационных предприятиях. На данный момент проведена оценка цитотоксичности одностенных углеродных нанотрубок на клеточных линиях BEAS-2B и RAW264.7.

В ходе эксперимента было выявлено проникновение исследуемых материалов в клетки, при этом вопрос о способах их проникновения в клетки и клеточные структуры остается открытым. Воздействие исследуемых материалов на клетки BEAS-2B и RAW 264.7 не имело цитотоксического и проапоптогенного действия.

УДК 615.9:615.099.092:577:615.777.9:616.12:57.084.1

О.П. Герцен¹, С.Р. Набиев¹, С.В. Клинова², И.А. Минигалиева²,
Б.А. Кацнельсон², Л.В. Никитина¹

**СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ И НАНОЧАСТИЦ
СВИНЦА И КАДМИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ МИОЗИНА В РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ
СЕРДЦА КРЫС**

¹ *ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
г. Екатеринбург, Россия*

² *ФБУН «Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики
и охраны здоровья рабочих промпредприятий», г. Екатеринбург, Россия*

Сердечно-сосудистые заболевания – основная причина смертности в мире – около 32%, и в России – более 50% от общей смертности, поэтому изучение структуры и функции сердца в норме и при патологии актуально. Все камеры сердца имеют отличия в структуре и функции, в том числе на уровне сократительных белков, поэтому для понимания полной картины функционирования сердца целесообразно изучать каждый отдел.

Токсические соединения свинца и кадмия влияют на структуру и функцию сердца, способствуя возникновению и обострению патологий сердечно-сосудистой системы. Свинец и кадмий присутствуют в воздухе, домашней пыли, почве, воде, продуктах питания и многих потребительских продуктах, а их накопление в среде характеризуются стойкостью и создаёт условия для токсического воздействия на население через много лет после прекращения промышленной эмиссии. Свинец и кадмий накапливаются в организме человека и животных, например, в костях, из которых период их полувыведения составляет десятилетия.

Соединения в виде наночастиц более доступны на клеточном уровне по сравнению с макрочастицами, поэтому они наносят наиболее серьезный вред. Исследования действия наночастиц свинца и кадмия на сократительную функцию миокарда на уровне изолированных белков не проводились несмотря на то, что есть предположения о их влиянии непосредственно на сократительные белки.

Аутбредным крысам внутрибрюшинно вводили раствор ацетата свинца и хлорида кадмия 3 раза в неделю до 18 инъекций – однократно по 6.01 мг/кг массы тела по свинцу и 0.377 мг/кг по кадмию. Раствор наночастиц оксида свинца и оксида кадмия вводили 3 раза в неделю до 18 инъекций – однократно по 2.32 мг/кг массы тела по свинцу и 0.22 мг/кг по кадмию. Группам контрольных крыс вводили стерильную воду.

Методом *in vitro* motility assay определяли скорость движения регулируемых тонких филаментов, состоящих из актина, тропонина и тропомиозина, по миозину, выделенному из разных отделов сердца.

Хроническая интоксикация солями свинца снижала максимальную скорость скольжения реконструированного тонкого филамента ($V_{\max R}$) по миозину предсердий – на 26%, правого желудочка – на 24%, левого желудочка – на 19%.

Хроническая интоксикация солями кадмия снижала $V_{\max R}$ по миозину предсердий на 20%, повышала $V_{\max R}$ по миозину правого желудочка на 26% и левого желудочка – на 3%.

Хроническая интоксикация солями свинца и кадмия в комбинации снижала $V_{\max R}$ по миозину предсердий на 28%, повышала $V_{\max R}$ по миозину правого желудочка на 12% и снижала $V_{\max R}$ по миозину левого желудочка на 11%.

При хронической интоксикации наночастицами свинца максимальная скорость скольжения нативного тонкого филамента ($V_{\max N}$) по миозину предсердий снижалась на 14%, правого желудочка – на 12%, левого желудочка – на 16%.

При хронической интоксикации наночастицами кадмия $V_{\max N}$ по миозину предсердий снижалась на 6%, правого желудочка – на 5%, левого желудочка – на 8%.

При комбинированной хронической интоксикации наночастицами свинца и кадмия $V_{\max N}$ по миозину предсердий снижалась на 26%, правого желудочка – на 7%, левого желудочка – на 19%.

Таким образом, проявление и степень воздействия интоксикации зависит как от формы ксенобиотика (соли или наночастицы), так и от конкретного отдела сердца.

И.Ф. Гетте¹, А.А. Остроушко², И.Г. Данилова¹, М.О. Тонкушина²

СРАВНЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОКЛАСТЕРНЫХ ЖЕЛЕЗО-МОЛИБДЕНОВЫХ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ И СМЕСИ СОСТАВЛЯЮЩИХ ИХ КОМПОНЕНТОВ

¹ФБГУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
г. Екатеринбург, Россия

²ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. первого президента
России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия

Немногочисленные исследования свидетельствуют о более значительном токсическом действии наноматериалов, содержащих оксиды металлов, по сравнению с солевыми растворами металлов и оксидами металлов, но сравнению токсичности наночастиц и отдельных компонентов наночастиц уделяется недостаточно внимания. В предыдущем нашем исследовании было установлено менее выраженное изменение количества нуклеиновых кислот и гистоновых белков в лимфоцитах крови крыс при действии железо-молибденовых полиоксометаллатов (ПОМ) по сравнению с действием смеси компонентов ПОМ. Перспективность использования ПОМ в медицине связана с их малой токсичностью, способностью образовывать ассоциаты с биологически активными соединениями и транспортироваться электрофоретически, распадаться на составляющие элементы, утилизируемые организмом, отсутствием аккумуляции в печени, почках и костной ткани при субхроническом введении. В то же время сравнение действия ПОМ и составляющих компонентов остается малоизученным. Цель исследования – выявить влияние однократного и многократного субхронического действия железо-молибденовых полиоксометаллатов и смеси составляющих ПОМ компонентов на биохимические и гематологические показатели крыс.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 50 крыс-самцов Wistar массой 220-280 г, содержание животных и манипуляции соответствовали Директиве Совета ЕС 2010/63/EU. Выделили группы животных: 1 - интактная, 2 – ПОМ, 3 - компоненты ПОМ. Группы 2 и 3 разделили на подгруппы по 5 крыс, которые получали 1, 7 и 30 внутримышечных инъекций раствора ПОМ или компонентов ПОМ в воде для инъекций с ежедневной дозой 1,5 мг/кг и были выведены из эксперимента на 1, 7 и 30 сутки. Смесь компонентов ПОМ была получена

деструкцией ПОМ при увеличении pH и нейтрализации раствора. Использовали биохимические и гематологические методы анализа.

Результаты и обсуждение. Инъекции ПОМ в количестве 1, 7 и 30 не вызвали изменения активности АСТ, АЛТ, альфа-амилазы, щелочной фосфатазы (ЩФ) и костного изофермента ЩФ, содержания общего белка, мочевины и креатинина в плазме крови животных относительно показателей интактной группы. Эти результаты свидетельствуют об отсутствии цитолитического синдрома, в том числе в печени и миокарде, отсутствии повреждения ацинарной части поджелудочной железы, изменений в костной ткани, сохранности белоксинтетической функции печени и фильтрующей способности почек. Увеличение уровня глюкозы и соотношения АСТ/АЛТ после 7 инъекций ПОМ, вероятно, связано с процедурой внутримышечных инъекций, к которым происходит адаптация на 30 сутки. Семикратное введение компонентов ПОМ сопровождалось увеличением содержания глюкозы, активности АСТ, ЩФ и снижением АСТ/АЛТ; последние два показателя превышали норму на 30 сутки.

Во все сроки эксперимента введение ПОМ сопровождалось увеличением количества гемоглобина, эритроцитов, содержания и концентрации гемоглобина в эритроцитах, гематокрита. При введении компонентов ПОМ обнаружено только увеличение содержания гемоглобина в крови на 7 сутки, но количество тромбоцитов в этот же срок снизилось. Установлено уменьшение общего количества лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов и средних клеток после 1 и 7 инъекций ПОМ и нормализация этих показателей к 30 суткам. Общее количество лейкоцитов, лимфоцитов и средних клеток после инъекций компонентов ПОМ снизилось в большей степени, чем при действии ПОМ и не нормализовалось после 30 инъекций.

Заключение. Действие ПОМ можно оценить как менее токсичное по сравнению с действием компонентов ПОМ, не организованных в наночастицы. Внутримышечное введение ПОМ, в отличие от составляющих ПОМ компонентов, вызвало увеличение содержания гемоглобина и эритроцитов в крови и сопровождается менее выраженной лейкопенией.

Исследования проведены в рамках выполнения государственного задания

Министерства науки и высшего образования РФ

(проекты № 4.6653.2017/8.9 и № АААА-А21-121012090094-7)

В.А. Грынчак, С.И. Сычик

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КОМПЛЕКСНОЙ
ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ
НАНОМАТЕРИАЛОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр
гигиены», г. Минск, Республика Беларусь*

В настоящее время благодаря своим размерам и физико-химическим свойствам в клинической практике активно используются изделия медицинского назначения, которые вырабатывают, содержат или состоят из наноматериалов. Материал медицинского назначения считается наноматериалом, если его внешние, внутренние параметры или структуры имеют размер 1-100 нм. Сами наноматериалы могут представлять собой порошки, коллоидные дисперсии, а также входить в состав матрикса или находиться на поверхности изделий. Так с применением нанотехнологий получены новые шовные материалы, например, полилактатное полотно, способное без клея прикрепляться к краям хирургического надреза и закрывать его от внешней среды, препятствуя заражению и улучшая заживление. Материал является саморассасывающимся, поэтому шовные нити не требуется снимать.

Наноматериалы способны перемещаться по организму и быть захваченными тканями, могут влиять на биологические процессы, происходящие на клеточном, субклеточном и биомолекулярном уровнях. Способны пересекать не только клеточную мембрану, но также и внутриклеточные структурные элементы, взаимодействуя и изменяя основные клеточные функции. Помимо дозы и элементного состава наноматериалов, решающую роль в их распространении в организме человека и токсичности играют такие факторы, как форма частиц, площадь их поверхности, функция, способность образовывать агрегаты и поверхностный заряд.

Согласно государственному реестру медицинской техники и изделий медицинского назначения, в настоящее время количество зарегистрированных и имеющих право на реализацию на территории Республики Беларусь медицинских изделий, состоящих из наноматериалов, составляет более 40 наименований из США, Российской Федерации, Италии и Республики Беларусь.

В соответствии с «Общие требования безопасности и эффективности медицинских изделий, требования к их маркировке и эксплуатационной документации на них» утвержденными Решением совета Евразийской

экономической комиссии от 12 февраля 2016 г. № 27: маркировка медицинского изделия должна содержать информацию о наличии в медицинском изделии наноматериалов, если такие наноматериалы не содержатся в связанном состоянии, исключающем возможность их попадания в организм пользователя при использовании медицинского изделия по назначению, определенному производителем; инструкция по применению изделия медицинского назначения должна содержать информация о наличии наноматериала.

Для проведения исследований с целью оценки биологического действия медицинских изделий с наноматериалами в соответствии с рекомендацией Коллегии Евразийской экономической комиссии «О перечне стандартов, в результате применения которых на добровольной основе полностью или частично обеспечивается соблюдение соответствия медицинских изделий Общим требованиям безопасности и эффективности медицинских изделий, требованиям к их маркировке и эксплуатационной документации на них» применяется ГОСТ ISO 10993-22-2020 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 22. Руководство по наноматериалам». Указанный международный стандарт является руководством и описывает объем знаний на момент его создания и не содержит конкретных методов изучения биологического действия наноматериалов медицинского назначения. Применение традиционных подходов к оценки биологического действия медицинских изделий, изложенных в серии ISO 10993 может привести к неадекватной оценке наноматериала, что основано на их потенциальной способности пересекать все защитные барьеры организма и достигать органов и систем, недоступных для обычных материалов. Биологическое действие не зависит напрямую от концентрации или числа молекул, а зависит от самого наноматериала.

Таким образом, существующая методология токсиколого-гигиенической оценки медицинских изделий недооценивает потенциальную токсичность и опасность наноматериалов медицинского назначения для здоровья человека, что указывает на актуальность дальнейших исследований в данном направлении.

Анка Оана Доча¹, Даниэла Калина²

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА IN VIVO

¹*Кафедра токсикологии, Университет медицины и фармации Крайовы,
Крайова, Румыния*

²*Кафедра клинической фармации, Университет медицины и фармации
Крайовы, Крайова, Румыния*

Ненадлежащее использование антибиотиков – одна из причин развития множественной лекарственной резистентности бактерий. Наночастицы серебра считаются отличной опцией в лечении бактериальных, грибковых и вирусных инфекций, поскольку, помимо выраженного антибактериального действия, они способствуют заживлению ран, а также являются долговечными, эффективными и относительно недорогими. Мы синтезировали наночастицы серебра, функционированные этиленгликолем, в реакции восстановления нитрата серебра в щелочном растворе этиленгликоля и гидроксида натрия. Субхроническая токсичность наночастиц серебра в этиленгликоле была исследована на 40 крысах линии CD-SD в возрасте 12 недель. Животные были разделены на 4 группы по 10 крыс в каждой (5 самок и 5 самцов), которым в течение 28 дней внутрибрюшинно вводили коллоидный раствор наночастиц серебра в этиленгликоле в дозировке 0, 1, 2 и 4 мг/кг массы тела соответственно. В конце исследования животные были умерщвлены, после чего был проведён полный биохимический анализ их крови и гистопатологическое исследование тканей печени, почек, селезенки, сердца, легкого и мозга. Мы установили низкую токсичность максимальной испытанной дозировки коллоидного раствора наночастиц серебра в этиленгликоле равной 4 мг/кг массы тела, вводимой внутрибрюшинно, что является многообещающим результатом для его последующего клинического применения.

В.Ю. Зиновкина, В.М. Василькевич, Р.В. Богданов, Н.А. Гурская
**ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА МАГНИЯ В СУБХРОНИЧЕСКОМ
ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр
гигиены», г. Минск, Республика Беларусь*

Широкую распространенность в наноиндустрии получило применение наночастиц оксида магния (MgO), которые используются в пищевой и химической промышленности, медицине и фармацевтике, в электронике и оптике, в производстве высококачественной керамики, бумаги, фунгицидов, в качестве присадки к топливу, для очистки нефтепродуктов. В целом, необходимо отметить растущий спрос на наночастицы MgO .

Несмотря на то, что наноматериалы в мире уже используются более 20 лет, ни один из них не был изучен в полном объеме, поэтому достаточно сложно оценить потенциальные риски при их использовании. Установлено, что наночастицы MgO обладают высокой степенью потенциальной опасности для здоровья человека, обусловленной их способностью генерировать активные формы кислорода, вызывать летальные изменения в клетках, накапливаться в различных органах, приводя к патологическим изменениям, влиять на протеомный и метаболомный профили, инициировать генотоксический, эмбриотоксический эффекты. Учитывая широкий спектр применения наночастиц MgO в различных сферах деятельности человека и потенциальные риски воздействия, исследования, направленные на изучение биологического действия оксида магния, являются актуальными.

Объектом исследования являлись полученные сотрудниками ГНУ «Институт физики имени Б. И. Степанова НАН Беларуси» одним из методов физического синтеза опытные образцы наночастиц MgO , имеющие следующие характеристики: размер наночастиц MgO – 30-50 нм, гидродинамический диаметр у более чем 80 % частиц – 50-240 нм, величина ξ -потенциала в коллоидном растворе – $15,3 \pm 0,7$ мВ. Наночастицы MgO были стабилизированы в коллоидном растворе дистиллированной воды. Биологическое действие наночастиц MgO изучено в субхроническом эксперименте, выполненном на нелинейных крысах с соблюдением требований гуманного отношения к животным. Группы животных по 8 особей каждая были сформированы методом случайной выборки. Наночастицы MgO вводили через зонд

внутрижелудочно в дозах 100, 200 и 400 мг/кг на протяжении 3-х месяцев. Группа контрольных животных получала дистиллированную воду в соответствующем количестве. По завершению экспозиции были проведены исследования состояния органов и систем с определением морфофункциональных и клинико-биохимических показателей. Статистическая обработка экспериментальных данных выполнена непараметрическими методами с помощью компьютерной лицензионной программы STATISTICA 13.

При внутрижелудочном поступлении наночастиц MgO в дозах 100, 200 и 400 мг/кг наиболее выраженные изменения со стороны изученных органов и функциональных систем организма отмечались при введении наноксида магния в дозе 400 мг/кг. Со стороны центральной нервной системы наблюдалось преобладание процессов возбуждения (уменьшалась величина суммационно-подпорогового потенциала в опытных группах в дозах 200 и 400 мг/кг соответственно на 19,3 и 30,8 %, $p < 0,05$). В отношении печени было установлено угнетение активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови. Нарушение функции почек проявилось в сдвиге показателя pH мочи в щелочную сторону ($p < 0,05$), тенденции к уменьшению суточного диуреза. Со стороны морфологических показателей отмечались достоверно значимые увеличение массы печени (относительный коэффициент массы органа в 1,1 раза превышал контрольный уровень) и снижение массы сердца (относительный коэффициент массы сердца был в 1,1-1,2 раза ниже контроля). Клинико-диагностические показатели выявили изменения со стороны периферической крови ($p < 0,05$): снижался гематокрит (в 1,08 раза), увеличивался цветовой показатель, наблюдались лимфоцитоз и моноцитопения, отмечалась тенденция к увеличению содержания тромбоцитов. В сыворотке крови определялось достоверное повышение количества общего белка (в дозе 400 мг/кг его содержание превысило контроль в 1,28 раза, $p < 0,05$), отмечено снижение содержания хлоридов, глюкозы и липидов ($p < 0,05$).

В субхроническом эксперименте при внутрижелудочном поступлении выявлена способность наночастиц MgO вызывать дозозависимые общетоксические эффекты.

С.В. Клинова¹, И.А. Минигалиева¹, М.П. Сутункова¹,
В.Г. Панов^{1,2}, Ю.Л. Проценко³, Б.А. Кацнельсон¹
**КАРДИОВАЗОТОКСИЧНОСТЬ СВИНЕЦ- И КАДМИЙ-
СОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦ**

¹ *ФБУН «Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий», г. Екатеринбург, Россия*

² *ФГБУН Институт промышленной экологии УрО РАН,
г. Екатеринбург, Россия*

³ *ФГБУН Институт иммунологии и физиологии, Екатеринбург УрО РАН,
г. Екатеринбург, Россия*

По данным ВОЗ лидирующими причинами смерти населения в мире являются заболевания сердечно-сосудистой системы (ССЗ). Одним из факторов риска возникновения ССЗ является загрязнение производственной и окружающей среды токсичными металлами, среди которых особое значение придается свинцу и кадмию. Многими исследователями показано, что интоксикация свинцом и кадмием увеличивает риск развития ССЗ. Особую опасность представляет тот факт, что при работе промпредприятий воздух загрязняют частицы токсичных металлов нанометрового диапазона. Проблема влияния наночастиц (НЧ) на сердечно-сосудистую систему практически не изучена.

Целью нашей работы является исследование влияния наночастиц оксидов свинца (НЧ PbO) и кадмия (НЧ CdO) на сердечно-сосудистую систему.

Суспензии наночастиц оксидов металлов (2,32 мг по Pb и 0,22 мг по Cd на 1 кг массы тела) получали методом лазерной абляции. Частицы имели форму, близкую к сферической. Средний диаметр ($\pm$ стандартное отклонение) составлял $49,6 \pm 16,0$ нм для НЧ PbO и $57,0 \pm 13,0$ нм для НЧ CdO. Интоксикацию моделировали на белых беспородных крысах-самцах, случайным образом разделенных на 4 группы (контроль, НЧ PbO, НЧ CdO, НЧ PbO + НЧ CdO) по 12 животных. Возраст животных на начало эксперимента составлял 2,5 месяца, масса – около 225 г. Суспензии НЧ вводили интраперитонеально 3 раза в неделю в течение 6 недель (изолированно либо в комбинации). По окончании эксперимента неинвазивно регистрировали параметры электрокардиограммы и артериального давления у животных, исследовались специфические показатели сыворотки крови (концентрация кальция, эндотелина-1, натрийуретических пептидов (НУП), активность ангиотензин-превращающего фермента (АПФ)), проводился гистологический анализ

тканей сердца. Сократимость миокарда оценивалась на изолированных многоклеточных препаратах – трабекулах и папиллярных мышцах в изометрическом и физиологическом режимах сокращений. Для математического описания комбинированной токсичности была использована методология построения поверхности отклика.

Обнаружено снижение содержания кальция и эндотелина-1 после воздействия НЧ PbO и НЧ CdO как изолированно, так и в комбинации. Концентрация НУП снижалась в группе комбинированного воздействия. Интоксикация НЧ PbO снижала уровень АПФ как изолированно, так и в комбинации с НЧ CdO.

Во всех трех опытных группах показано снижение параметров артериального давления (АД), наиболее выраженное для среднего АД. Изменения ЭКГ после разных воздействий не были однозначными.

На гистологических препаратах обнаружено снижение толщины кардиомиоцитов (КМЦ) после всех трех токсических воздействий НЧ.

В группе НЧ PbO в папиллярных мышцах возрастали время достижения пика силы сокращений и время расслабления до 50% амплитуды от максимальной. При постнагрузках $P=0,7-0,9P/P_0$ комбинированная интоксикация НЧ PbO + НЧ CdO приводила к снижению соотношения «сила-скорость» в трабекулах. В этой же группе обнаружено снижение конечно-систолической длины в трабекулах при $P=0,1-0,7P/P_0$. Во всех группах крыс, подвергшихся воздействию НЧ, производимая сердечными мышцами работа уменьшилась: в трабекулах при интоксикациях НЧ CdO и НЧ PbO + НЧ CdO, а в папиллярных мышцах при интоксикациях НЧ PbO и НЧ CdO.

Тип комбинированной кардиоваскулярной токсичности НЧ PbO и НЧ CdO неоднозначен. Он зависит от эффекта токсического воздействия, степени этого эффекта, соотношения доз токсических веществ, степени растяжения КМЦ и исследуемого типа мышц.

Влияние НЧ PbO и НЧ CdO проявилось в снижении гемодинамических показателей, проявлении признаков дистрофии миокарда и снижении его эффективности.

Е.В. Ковалевский¹, И.В. Бухтияров¹, С.В. Кашанский²,
И.М. Цхомария¹

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ КОНТРОЛЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУХА НАНОЧАСТИЦАМИ НА ПРИМЕРЕ ПРИРОДНЫХ НАНОТРУБОК

¹ФГБУН «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», г. Москва, Россия

²ФБУН «Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий», г. Екатеринбург, Россия

Основным условием для принятия корректных управленческих решений по разработке мер профилактики при профессиональном контакте с наноразмерными частицами и волокнами является объективная характеристика воздействия. В качестве показателей воздействия принимаются общая масса и масса отдельных размерных фракций аэрозоля, площадь поверхности и число частиц. В отношении наноразмерных частиц традиционно основной интегральный показатель контроля (масса частиц) представляется необходимым дополнять как минимум данными о количестве частиц.

Различают прямые и косвенные методы контроля загрязнения воздуха. Прямые – методы определения концентрации в показателях, совпадающих с физическими свойствами частиц, положенными в основу измерения. Косвенные – методы получения показателей степени запылённости воздуха, основанные на использовании какого-либо свойства пылевых частиц, отличного от того, которое используется для выражения этого показателя. Несмотря на всё более широкое распространение приборов косвенного определения концентраций пыли, в том числе с разделением на отдельные фракции, до настоящего времени в мировой практике для получения исчерпывающих характеристик воздействия приоритетными являются прямые методы. Среди них использование электронной микроскопии (ЭМ) рассматривается как одно из наиболее приоритетных направлений, позволяющее максимально полно характеризовать витающие в воздухе пылевые частицы, особенно мелкодисперсные, наноразмерные и волокнистые.

Развитие современных подходов к контролю наноразмерных частиц в воздухе, в первую очередь нановолокон, возможно проиллюстрировать на примере природных нанотрубок. Встречающиеся в природе филлосиликаты (слоистые структуры на основе силикатов) структурно разнообразны, и некоторые из них обладают способностью образовывать

нанотрубки. Слои кремнекислородных тетраэдров в их структуре обособлены друг от друга и связаны катионами. Среди представителей: тальк, серпентин, полыгорскит, слюды, гидрослюды, хлориты, минералы глин, титаносиликаты, ураносиликаты и многие другие.

Наноразмерные трубки преимущественно образуют магний- и алюмосиликаты. Все они в той или иной мере нашли применение в различных отраслях промышленности и при определённых условиях могут оказывать неблагоприятное действие на здоровье человека. Наибольшую известность получил хризотилковый асбест или хризотил (волокнистый серпентинит), видимые волокна которого представляют собой пучки из множества наноразмерных трубок.

Широчайшее применение хризотила в XX веке наряду с другими разновидностями «асбеста» – игольчатыми кристаллами ферросиликатов (волокнистых амфиболов) и возможность развития целого ряда профессиональных заболеваний, в том числе и онкологических, при неконтролируемом воздействии, послужили причиной пристального внимания к разработке методов контроля их содержания в воздухе рабочей зоны. С учётом волокнистого строения, определяющего существенные отличия от неволокнистых частиц в способности длительно находиться в воздухе, проникать и задерживаться в глубоких отделах органов дыхания, взаимодействовать с органами и тканями, показатели контроля по массе частиц были признаны недостаточными, косвенные методы контроля неприменимыми и предложены показатели количества волокон определённого размера в единице объёма воздуха, определяемые с помощью оптической микроскопии (ОМ) и ЭМ.

Опыт практического использования этих методов убедительно демонстрирует критическую важность не только тщательного выбора методов отбора проб воздуха, используемых расходных материалов и оборудования (фильтров и пробоотборников, ОМ и ЭМ с необходимыми характеристиками и, в случае ЭМ, оснащённых соответствующими приставками для исследования типа и состава волокон, а также различного вспомогательного оборудования), но и высокой квалификации операторов, выполняющих исследования. Этот опыт представляется ценным для дальнейшей разработки подходов к определению уровней воздействия, в том числе искусственных наноразмерных волокон и наночастиц.

А.И. Колобанов, А.А. Шумакова, И.Е. Соколов, И.В. Гмошинский
**ВЛИЯНИЕ ПЕРОРАЛЬНО ВВОДИМЫХ ЧАСТИЦ
НАНОГЛИНЫ НА ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ОРГАНОВ
ЖИВОТНЫХ И ДРУГИЕ ПОКАЗАТЕЛИ**

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», г. Москва, Россия

В настоящее время бентонитовая глина (БГ) находит широкое применение в пищевой промышленности, в таких областях, как производство напитков, пищевых добавок, упаковочных материалов, адсорбентов (для очистки масел). Тем не менее данные о её пероральной токсичности *in vivo* противоречивы

Целью данного исследования явилось выявление биологических эффектов в части накопления элементов в печени и почках лабораторных животных, получавших на протяжении 92-суточного подострого эксперимента БГ.

В работе использовали БГ «Монамет 1Н1®» (АО «МЕТАКЛЭЙ», Россия). Эксперимент проведен на 64 крысах самцах линии Вистар (4 группы по 16 животных). На протяжении 92 суток опыта животные получали полусинтетический сбалансированный рацион по AIN-93 с добавлением суспензии БГ в дозах 0 (контроль); 1; 10 и 100 мг на 1 кг массы тела. Крыс еженедельно взвешивали и на 93-и сутки эксперимента выводили из эксперимента после 16-часового голодания. Отбирали кровь, органы взвешивали и замораживали при -20°C. Методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой в печени и почках животных определяли содержание следующих элементов: Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, Gd, K, La, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, V и Zn. Разложение проб проводили с использованием системы микроволновой минерализации проб под давлением TOPWAVE» в смеси концентрированной азотной кислоты и концентрированной перекиси водорода 5:1, измерения – на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Agilent Technologies 7700х.

В печени крыс, получавших БГ, достоверное дозозависимое снижение по сравнению с контрольной группой, подтвержденное факторным дисперсионным анализом ($p < 0,05$), наблюдалось в отношении содержания В, Ве, Се, Сs. Содержание таких жизненно важных элементов, как К, Мг и Na, являющихся основными структурными элементами клетки и живых организмов, не менялось у животных, получавших различные дозы БГ по сравнению с контрольной группой (факторный анализ, $p > 0,05$). Также не было выявлено достоверных изменений в содержании Ag, As, Ca,

Cr, Ga, Se, Tl и Zn в зависимости от дозы БГ, хотя различия с контрольной группой были достоверны. Интересно отметить, что если содержание Ag, As, Ca, Ga, Se, Tl в печени крыс, получавших БГ в различных дозах, в той или иной степени снижалось по сравнению с контролем, то содержание Cr и Zn наоборот- повышалось (незначительно по абсолютной величине). Не было обнаружено достоверных изменений в накоплении ряда элементов – Al, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Gd, La, Mn, Ni, Pb, Rb, Sr и V – в печени животных, получавших БГ по сравнению с контрольной группой (ANOVA, факторный анализ, $p > 0,05$). В почках достоверные (ANOVA, $p < 0,05$) дозозависимые изменения в накоплении наблюдались у животных, получавших БГ, в отношении Mg и P (снижение), Cs и Ag (увеличение), что, однако, подтверждалось факторным анализом ($p < 0,05$) только в случае P. Содержание B, Ba, Be, Ca, Cd, Ce, Cu, Fe, Ga, K, La, Mn, Se, Sr и Zn у животных опытных групп снижалось по сравнению с контрольной группой, одновременно с этим в некоторых случаях наблюдалась достоверная тенденция зависимости от дозы – Ca, Fe, K, La и Zn.

Полученные результаты коррелируют с данными, полученными в работе [Шипелин В.А., Шумакова А.А., Мусаева А.Д. и др. Токсиколого-гигиеническая характеристика бентонитовой наноглины, применяемой в пищевой промышленности // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 3. С. 71-85], в которой нами был показан эффект БГ на угнетение катаболизма белка с одновременным увеличением массы тела животных, развитие иммунной реакции и угнетение роста бифидофлоры. Проведенные исследования в целом позволяют делать вывод о том, что обнаруженные неблагоприятные эффекты связаны с угнетающим влиянием БГ на симбиотическую кишечную микрофлору и, как следствие, проявляющееся снижение в накоплении ряда элементов, в том числе токсичных и эссенциальных. Полученные данные следует учитывать при оценке рисков, вызываемых использованием БГ в пищевой промышленности.

А.А. Масленников, С.А. Демидова, О.Н. Новикова, В.А. Антонов
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ
НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ОБЩЕСАНИТАРНЫЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОДЫ ВОДОЕМОВ**

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» Федерального медико-биологического агентства, (ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России), г. Волгоград, Россия

В процессе экспериментального обоснования предельно допустимой концентрации сферических наночастиц серебра (диаметр 20-40 нм – 10-90 процентыль) в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования изучено их отрицательное влияние на основные процессы самоочищения воды.

Исследования выполнены в соответствии с требованиями действующих методических указаний (МУ 2.1.5.720 – 98).

Общесанитарные свойства воды, содержащей препарат, оценивали по показателям полного биохимического потребления кислорода – БПК₂₀; развития и отмирания сапрофитной микрофлоры; динамики процессов нитрификации (триада азота).

При постановке опыта по определению БПК₂₀ вещество вносили в водоёмы в концентрациях: 0,22; $4,4 \cdot 10^{-2}$; $8,8 \cdot 10^{-3}$; $1,8 \cdot 10^{-3}$ и $3,5 \cdot 10^{-4}$ мг/л. Выбор уровней соединения обусловлен результатами ранее проведенных работ по оценке его органолептических и токсикологических свойств (на лабораторных животных).

В ходе выполнения эксперимента с первых по 10 сутки выявлено критериально значимое угнетение протекания реакции аэробного биохимического окисления в воде, содержащей вещество в трех максимальных уровнях. При содержании препарата наносеребра в концентрации – $3,5 \cdot 10^{-4}$ мг/л каких-либо существенных отклонений относительно аналогичных контрольных значений не обнаружено.

Оценку состояния сапрофитной микрофлоры воды осуществляли при внесении тестируемого препарата в концентрациях $1,8 \cdot 10^{-3}$; $3,5 \cdot 10^{-4}$ и $7,0 \cdot 10^{-5}$ мг/л.

Длительность исследований (микробиологических посевов) составила 14 дней.

Результаты проведенных опытов свидетельствуют о том, что наличие в воде «искусственных» водоёмов нанопрепарата в двух больших уровнях вызывало разнонаправленные негативные изменения численности колоний сапрофитной микрофлоры, что отрицательно сказывалось на

самоочищении данной экосистемы. При снижении содержания вещества в воде до $7,0 \cdot 10^{-5}$ мг/л угнетения или стимуляции роста клеток данных микроорганизмов не обнаружено.

Влияние препарата наносеребра на процессы нитрификации в воде оценивали при его содержании в «искусственных» водоёмах в концентрациях $1,8 \cdot 10^{-3}$, $3,5 \cdot 10^{-4}$ и $7,0 \cdot 10^{-5}$ мг/л.

Тестирование проб воды проводили через 1 час после внесения вещества, 1, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 23, 26, 27, 28, 29, 30 и 33 сутки.

Обнаружено, что наносеребро в двух больших уровнях оказывало негативное воздействие на триаду азота. Так, начиная с 0-х и по 17-е сутки эксперимента, отмечены разнонаправленные сдвиги процессов нитрификации на этапе образования нитратов. В последующие сроки опыта, при сохранении указанных отклонений, зафиксированы также трансформации на начальной стадии аммонификации и промежуточной – окислительной (азот нитритов). Данный факт свидетельствует о нарушении процессов самоочищения водной экосистемы, т. е. разбалансировке соотношения между содержанием различных соединений азота, необходимых для нормального функционирования жизнедеятельности фауны и флоры в водоёмах. В концентрации $7,0 \cdot 10^{-5}$ мг/л в течение всего эксперимента достоверных изменений относительно контроля не отмечено, что позволило интерпретировать данную величину как подпороговую.

Сводный анализ результатов выполненных комплексных работ указывает на способность препарата наносеребра проявлять отрицательное воздействие на процессы самоочищения и самовосстановления воды. Концентрация аргентонаночастиц $3,5 \cdot 10^{-4}$ мг/л признана пороговой, а уровень – $7,0 \cdot 10^{-5}$ мг/л максимально недействующим по общесанитарному признаку вредности.

Сопоставление полученной в проведенной серии опытов максимально недействующей концентрации с аналогичным значением, установленным ранее по органолептическому ($8,8 \cdot 10^{-3}$ мг/л) и санитарно-токсикологическому ($4,4 \cdot 10^{-3}$ мг/л) признакам вредности, свидетельствует о том, что лимитирующим фактором при экспериментальном обосновании гигиенического норматива наночастиц серебра диаметром 20-40 нм (10-90 процентыль) в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования является общесанитарный показатель.

Л.И. Привалова¹, М.П. Сутункова¹, И.А. Минигалиева¹,
В.Б. Гурвич¹, О.Г. Макеев², И.Е. Валамина², Т.В. Бушуева¹,
С.В. Клинова¹, Ю.В. Рябова¹, С.Н. Соловьева¹, Ю.Л. Проценко³,
Л.В. Никитина³, О.П. Герцен³, Б.А. Кацнельсон¹

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА К
ВРЕДНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭЛЕМЕНТНЫХ И
ЭЛЕМЕНТНО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ**

¹*ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и
охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург, Россия*

²*Центральная научно-исследовательская лаборатория Уральского
Государственного медицинского университета Минздрава России,
г. Екатеринбург, Россия*

³*ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
г. Екатеринбург, Россия*

Техногенное загрязнение среды обитания может быть стойким и даже практически трудно устранимым, а для некоторых химических веществ надёжно безопасные низкие уровни экспозиции на рабочем месте технически недостижимы или предположительно не существуют. Как дополнительный путь управления риском для здоровья, направленный на снижение вредных экспозиций, биологическая профилактика нацелена на усиление защитных механизмов организма. Этот подход к управлению рисками для здоровья особенно актуален при многокомпонентном загрязнении производственной и окружающей среды, что типично для многих промышленно развитых территорий.

Токсикологические эксперименты были проведены на аутбредных белых крысах при трех различных путях введения в серии острых, субхронических и хронических экспериментов. Биопротекторы в составе так называемых биопрофилактических комплексов (БПК) применялись параллельно с субхронической внутрибрюшинной затравкой крыс, в ходе ингаляционной экспозиции или перед однократным интратрахеальным введением наночастиц. В работе использовался комплекс методов гигиенического, токсикологического анализа, включая методы биопрофилактики, биохимические, цитохимические, функциональные, физиологические, гистологические и морфометрические, оптической, полуконтактной атомносиловой, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии, методы статистического анализа.

Теоретически обоснованы и апробированы в экспериментах конкретные способы повышения устойчивости организма к токсичности наночастиц, как при изолированном, так и комбинированном воздействиях. В серии экспериментов показано, что токсичность может быть ослаблена путём повышения резистентности организма к ней с помощью безопасных биопротекторов, подобранных на основе общих теоретических предпосылок с учётом как общих токсикокинетических и токсикодинамических механизмов особо вредного действия, так и специфики действия конкретных токсикантов в наноразмерном состоянии. Научно обосновано и успешно апробировано в токсикологических экспериментах применение ряда биопротекторов, повышающих устойчивость организма: к генотоксическому действию наночастиц никеля; пульмонотоксическому действию наночастиц аморфного диоксида кремния; комбинированному токсическому действию оксидов наночастиц: меди, цинка и свинца; свинца и кадмия; алюминия, титана, кремния. Впервые показано кардиовазопротекторное действие разработанного биопрофилактического комплекса при комбинированном действии наночастиц свинца и кадмия. Особое значение имеет то, что биопрофилактические комплексы существенно ослабляли генотоксический эффект перечисленных комбинаций.

УДК 615.9:615.099.092:577:661.691.2:57.084.1

Ю.В. Рябова¹, Л.И. Привалова¹, И.А. Минигалиева¹,
М.П. Сутункова¹, В.Б. Гурвич¹, О.Г. Макеев², Т.В. Бушуева¹,
Р.Р. Сахаутдинова¹, С.В. Клинова¹, С.Н. Соловьёва¹,
А.В. Тажигулова¹, Б.А. Кацнельсон¹

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА СЕЛЕНА НА ОРГАНИЗМ

¹*ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и
охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург, Россия*

²*Центральная научно-исследовательская лаборатория Уральского
Государственного медицинского университета Минздрава России,
г. Екатеринбург, Россия*

Профессиональный контакт с селеном и его соединениями, включая наноразмерные формы, встречается в стекольном производстве, резиновой промышленности, в металлургии (при переработке медных шламов,

обжиге медного колчедана, производстве марганца, селена и теллура). Такая широкая распространенность делает необходимым экспериментальную оценку его токсичности.

Субхроническая интоксикация крыс, вызванная повторными внутрибрюшинными инъекциями (всего 18 введений) стабильных водных суспензий наночастиц оксида селена в различных дозировках проявилась слабыми сдвигами показателей состояния организма. Нами было исследовано три дозы; при суммарной дозе, равной 3,6 мг/кг веса, 14,9% показателей достоверно отличались от контрольных значений, при суммарной дозе 18 мг/кг веса – 14,9%, при суммарной дозе 36 мг/кг веса – 14,4%. Наночастицы были получены методом лазерной абляции в Уральском федеральном университете.

При любой из трех исследованных нами доз наблюдалось снижение активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах крови, отражающей интенсивность энергетических процессов в клетке, что связано, вероятно, с замещением селеном лабильных атомы серы в этом соединении. С эти предположением согласуются литературные данные о замещении серы наночастицами селена в белках. Увеличивалось число эозинофилов в мазка-отпечатках паренхиматозных органов, свидетельствующее о способности нанооксида селена к запуску сигнальных каскадов в иммунокомпетентных клетках. При суммарных дозах, равных 18 мг/кг веса и 36 мг/кг веса, изменения были приблизительно одинаковой степени выраженности и включали в себя, кроме вышеперечисленного, резко увеличенное число дегенеративных клеток в проксимальных канальцах почек. Изменялись параметры электрокардиограммы, дыхания и артериального давления под влиянием изученных нами доз нанооксида селена. Обнаружена тенденция к падению артериального давления, частоты сердечных сокращений и нарушению процессов реполяризации миокарда.

Во всех группах, экспонированных к наночастицам селена, в сравнении с контролем снизилось число нейтрофилов в мазках-отпечатках печени без явной дозозависимости. Не было показано негативного воздействия на коэффициент фрагментации геномной ДНК ядродержащих клетках крови крыс, а при наибольшей суммарной дозе, 36 мг/кг веса, наблюдалось статистически достоверное снижение коэффициента фрагментации.

Отличительной особенностью действия наночастиц оксида селена в сравнении с исследованными ранее металлоксидными наночастицами является способность наряду с оказанием вредных эффектов оказывать положительное действие на организм.

И.А. Ситников, Д.Р. Шаихова, А.М. Амромина, М.П. Сутункова,
Ю.В. Рябова, А.В. Тажигулова, В.О. Рузаков
**СНИЖЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРА
NMDA В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ
ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ
ОКСИДА МЕДИ**

*ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и
охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург, Россия*

В связи с глобализацией развития нанотехнологий, в настоящее время изучение наноматериалов и воздействия наночастиц имеет огромное значение в рамках оценки риска, создаваемого производством и применением таких материалов. Частицы нанометрового диапазона составляют существенную фракцию в аэрозольном загрязнении атмосферного воздуха и воздуха рабочих помещений ряда отраслей промышленности. Наночастицы являются фактором риска возникновения и прогрессирования многих нейродегенеративных заболеваний. Так, нарушение регуляции медью рецепторов NMDA может играть роль в неврологических расстройствах, например, в патогенезе болезни Менкеса и болезни Альцгеймера. Ранее было показано, что NMDA-рецепторы в гиппокампе играют решающую роль в развитии пространственного обучения, памяти, синаптической пластичности, а также в нейротоксичности.

В течение 6 недель 3 раза в неделю внутрибрюшинно аутбредным белым крысам-самцам вводили суспензию наночастиц оксида меди, полученную методом лазерной абляции. Контрольным животным вводили стерильную деионизированную воду в том же объеме. Первая группа животных являлась контрольной (Контроль); вторая группа подвергалась воздействию наночастиц меди в разовой дозе 1 мг/ кг массы тела (CuO 0,25 мг/мл); третья – воздействию наночастиц меди в разовой дозе 2 мг/ кг массы тела (CuO 0,5 мг/мл). Выполнялась фиксация части гиппокампа крыс в фиксаторе IntactRNA для стабилизации РНК в биологических образцах с последующим выделением суммарной РНК фенол-хлороформным методом. Количественный анализ РНК проводился с использованием флуориметра Qubit 4 набора реактивов Qubit™ RNA BR Assay Kit 100 assays. Образцы РНК обрабатывались раствором ДНКазы I, не содержащей РНКаз. Далее проводилась реакция обратной транскрипции с набором реактивов MMLV-RH (Диаэм) при помощи амплификатора

Thermal Cycler SimpliAmp™. Определение экспрессии генов GRIN1, GRIN2a и GRIN2b, кодирующих белки GluN1, GluN2a и GluN2b, соответственно, методом ПЦР в реальном времени с праймерами, зондами и геном домашнего хозяйства GAPDH. Уровень экспрессии генов определяли по содержанию мРНК исследуемого гена относительно количества мРНК референсного гена домашнего хозяйства GAPDH. Для статистической обработки данных использовался непараметрический критерий Краскела – Уоллиса для попарного сравнения нескольких групп в программе Statistica 12. Обнаружена обратная корреляция уровня экспрессии генов GRIN1, GRIN2A, GRIN2B, кодирующих белки субъединиц рецептора NMDA (GluN1, GluN2a и GluN2b) в гиппокампе и концентрации наночастиц оксида меди. Увеличение концентрации наночастиц оксида меди приводило к снижению экспрессии, что позволяет предположить дозозависимый эффект. Однако статистически значимые различия значений показателя порогового цикла для всех исследуемых генов обнаружены только для значений показателя у контрольной группы ($\Delta Ct_{(GRIN1)}=6,301$; $\Delta Ct_{(GRIN2A)}=7,823$; $\Delta Ct_{(GRIN2B)}=4,747$) и группы CuO 0,5 мг/мл ($\Delta Ct_{(GRIN1)}=0,813$; $\Delta Ct_{(GRIN2A)}=3,477$; $\Delta Ct_{(GRIN2B)}=1,37$).

Таким образом, оценка уровня экспрессии генов рецептора NMDA может быть использована в качестве генетического маркера для определения токсического действия наночастиц оксида меди, однако необходимы дальнейшие исследования, включающие проведение поведенческих тестов, которые позволили бы подтвердить наличие клинических проявлений нейродегенеративных расстройств. Полученные результаты потенциально могут использоваться для оценки экспозиции работающих к медьсодержащим НЧ на производстве.

С.Н. Соловьева, М.П. Сутункова, Л.П. Привалова,
И.А. Минигалиева, В.Б. Гурвич, И.Н. Чернышов, Б.А. Кацнельсон

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ
АЭРОЗОЛЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ СУЩЕСТВЕННУЮ
ФРАКЦИЮ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ**

*ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и
охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург, Россия*

Проведен основной эксперимент на крысах самках в возрасте 3 месяцев, которые подвергались ингаляционному воздействию наночастиц аморфного диоксида кремния в ингаляционной установке «только нос». Экспериментальная работа с экспозицией проводилась в течение 4 часов в день в концентрациях $2,6 \pm 0,6$ или $10,6 \pm 2,1$ мг/м³. В каждой группе (контрольные и опытная) было по 60 животных. Продолжительность эксперимента составила 6 месяцев с промежуточным сроком выведения в 3 месяца.

Исследуемый реальный промышленный аэрозоль содержит существенную фракцию наночастиц аморфного диоксида кремния и обладает незначительным общетоксическим действием и низкой фиброгенностью. Это полностью согласуется с результатами морфологического исследования препаратов легочной ткани. Наличие сетки из тонких аргирофильных ретикулиновых волокон можно объяснить низкой задержкой аморфного SiO₂ в лёгких и других органах из-за относительно высокой растворимости данных наночастиц в биосредах.

При исследовании электронной микроскопией обнаружено трансназальное проникновение частиц аэрозоля в ольфакторную область головного мозга. При проведении тестирования по нарушению структуры и репарации ДНК в клетках крови и костного мозга у крыс с использованием ПДАФ-теста было отмечено усиление фрагментации ДНК.

В сравнительной оценке цитотоксического действия при однократном интратрахеальном введении было показано, что биологическая агрессивность (оцененная по отношению нейтрофильных лейкоцитов к альвеолярным макрофагам, НЛ/АМ) исследуемого промышленного аэрозоля, содержащего 72 % аморфного диоксида кремния со средним размером наночастиц 90 нм статистически значимо ниже специально синтезированного почти 100% аморфного диоксида

кремния со средним размером - 43 нм, биологическая агрессивность которого была даже выше стандартной кварцевой пыли DQ₁₂. Такая повышенная биологическая агрессивность позволила допустить, что из всех компонентов промышленного аэрозоля основной причиной его высокой цитотоксичности, являются преобладающие в его составе наночастицы.

Резкий рост свободной клеточной популяции нижних дыхательных путей происходит в основном за счет скопления нейтрофильных лейкоцитов в ответ на отложение в них цитотоксических частиц. Это является типичной реакцией организма, как защитной (как механизм легочного клиренса), так и патологической (как компонент воспаления).

При оценке цитотоксического действия на фоне 30 дневного приема биопрофилактического комплекса (БПК) при однократном интратрахеальном введении НЧ промышленного аэрозоля была показана нормализация как цитологических, так и биохимических показателей бронхоальвеолярного лаважа.

Полученные экспериментальные данные применены для определения норматива загрязнения атмосферного воздуха населенных мест руднотермического производства технического кремния.

УДК 615.9:615.099.092:577:661.691.1/546.56:616.2: 57.084.1

А.В. Тажигулова, Ю.В. Рябова, И.А. Минигалиева,
М.П. Сутункова, В.Б. Гурвич, С.В. Клинова, С.Н. Соловьева,
А.К. Лабзова, Р.Ф. Минигалиева, Л.И. Привалова,
Б.А. Кацнельсон

**ОЦЕНКА РЕАКЦИИ ГЛУБОКИХ ОТДЕЛОВ
ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ КРЫС НА
ИНТРАТРАХЕАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ
СЕЛЕНА И МЕДИ**

*ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и
охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург, Россия*

Развитие нанотехнологий и широкое использование наноматериалов требует внимания к проблемам их влияния на здоровье. В частности, наночастицы селена и меди получают все более широкое применение в различных сферах человеческой деятельности. Во многих отраслях

промышленности возможен профессиональный контакт с селеном, медью и их соединениями т.к. область применения селена и меди достаточно широка, это химическая, стекольная и металлургическая отрасли в промышленности. В связи с этим, актуальность исследований наночастиц селена и меди имеют важнейшее значение как в рамках оценки риска, создаваемого производством и применением таких материалов, так и потому, что частицы нанометрового (НЧ) диапазона составляют существенную фракцию в аэрозольном загрязнении атмосферного воздуха и воздуха рабочих помещений ряда отраслей промышленности.

Целью нашего исследования является оценка реакции глубоких отделов дыхательных путей крыс на интратрахеальное введение наночастиц оксидов селена и меди.

Наночастицы были получены методом лазерной абляции в Уральском федеральном университете. При интратрахеальном введении стабильных суспензий наночастиц оксидов селена и меди в комбинации нами было обнаружено статистически значимо увеличение общего числа клеток бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ) в группе «НЧ SeO₂+ НЧ CuO». Это увеличение происходит преимущественно за счёт возрастания числа нейтрофильных лейкоцитов (НЛ). Одновременно увеличивается численное отношение НЛ/ альвеолярных макрофагов (АМ). Показатели увеличения числа нейтрофильных лейкоцитов и отношения числа НЛ/АМ служат критерием количественной оценки цитотоксического действия введённых частиц в легких. Известно, что мобилизация АМ, и в ещё большей степени НЛ, регулируются массой продуктов разрушения макрофагов, происходящего под действием фагоцитируемых ими цитотоксичных частиц. При интратрахеальном введении комбинации наночастиц оксидов селена и меди в надосадочной жидкости БАЛЖ отмечалось статистически значимое увеличение содержания аланиламинотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), амилазы, гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), типичное как эффект действия цитотоксичных частиц.

Полученные данные свидетельствуют о пульмонотоксическом действии комбинации наночастиц оксидов селена и меди, что обуславливает необходимость проведения профилактических мер.

Л.М. Фатхутдинова¹, Г.А. Тимербулатова^{1,2}

**МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОБОСНОВАНИЯ
БЕЗОПАСНЫХ УРОВНЕЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ
ИСКУССТВЕННЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ (НА ПРИМЕРЕ
КОРПОРАТИВНОГО НОРМАТИВА)**

¹ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан
(Татарстан)», г. Казань, Россия

Углеродные нанотрубки (УНТ) обладают уникальными физическими и химическими свойствами, что позволяет использовать их во многих сферах. Огромный спрос со стороны потребителей и отсутствие различий между продуктами разных производителей открывает двери для новых производителей. Важным этапом при выведении продукции на внутренний и мировые рынки является установление безопасных уровней воздействия УНТ.

В настоящее время отсутствуют национальные, в том числе российские, нормативы содержания УНТ в воздухе рабочей зоны. Имеются референтные значения, предлагаемые отдельными научно-исследовательскими организациями. Национальный институт безопасности и гигиены труда (США) рекомендует в настоящее время использовать референтный уровень 1 мкг/м³. В рамках европейского проекта ENRHES «Искусственные материалы: обзор влияния на здоровье и окружающую среду» было предложено использовать 0,67 мкг/м³ в качестве референтной концентрации для УНТ.

Роспотребнадзором РФ в 2010 году были установлены ОБУВ для трех наноматериалов (ГН 1.2.2633-10. Гигиенические нормативы содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей среды). Составители документа руководствовались предложенным в 2007 году Британским Институтом Стандартов предельно допустимым уровнем 0,01 волокно/см³, рассчитанным как 1/10 от ПДУ для волокон асбеста. С 2013 г. документ утратил свою силу.

Ряд производителей УНТ (например, бельгийский производитель МУНТ Nanocyl SA) используют свои корпоративные нормативы.

Обоснование корпоративного норматива проводится в экспериментах *in vitro* (на клеточных культурах) и *in vivo* (с использованием лабораторных животных).

При планировании экспериментов *in vitro* важно выбрать линию клеток, которая наилучшим образом соответствует предполагаемому маршруту воздействия органу-мишени при воздействии УНТ. Для моделирования ингаляционного пути воздействия УНТ рекомендуется использовать в первую очередь клеточные линии, представляющие дыхательные пути человека, например, BEAS-2B - клетки эпителия бронхов человека; HLF - фибробласты легких человека; HVerC - клетки эпителия бронхов человека и т.д. *In vivo* исследования можно проводить как на линейных (крысы линий Wistar, Sprague-Dawley и др.; мыши линий CBA, C57BL/6 и др.), так и нелинейных здоровых половозрелых животных. Наиболее обоснованным методом оценки воздействия УНТ является субхронический (90 дней) ингаляционный эксперимент, соответствующий требованиям OECD 413:2017. Оценка ингаляционного воздействия УНТ также может проводиться при однократной интратрахеальной инстилляцией для крыс, или фарингеальной аспирации для мышей с последующим наблюдением в течение 28, 90 и 180 дней.

Подбор доз УНТ для экспериментов *in vitro* и *in vivo*, должен осуществляться на основе расчета количества и массы осевших частиц в дыхательных путях человека при различных сценариях нахождения человека в запыленной воздушной среде. Компьютерное моделирование оседания аэрозольных частиц в различных зонах дыхательных путей человека можно проводить с использованием программного обеспечения MPPD (Multiple-Path Particle Dosimetry).

Важной задачей при оценке воздействия УНТ является получение гомогенных дисперсий, в которых УНТ становятся биодоступными для биологических систем. По данным нашего предыдущего исследования применение стерильных культуральных сред (с использованием ультразвуковой обработки) представляется наиболее оптимальным для приготовления дисперсий УНТ при проведении экспериментов на клеточных культурах; для проведения исследования на лабораторных животных - 1% бычий сывороточный альбумин.

В ходе экспериментов *in vitro* и *in vivo* определяется уровень воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект и/или наименьший уровень воздействия, при котором наблюдается вредный эффект на клеточные культуры/дыхательные пути животных. Полученные данные используются для обоснования корпоративного норматива УНТ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-315-90046).

В.Я. Шур¹, Е.В. Шишкина¹, В.И. Пряхина¹, Б.И. Лисьих¹,
Д.К. Кузнецов¹, М.П. Сутункова², Б.А. Кацнельсон²
**СОЗДАНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ
АБЛЯЦИИ В ЖИДКОСТИ ДЛЯ
НАНОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

¹*Институт естественных наук и математики
ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. первого Президента
России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия*

²*ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и
охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург, Россия*

Для исследования токсичности наночастиц (нанотоксикологии) необходимо создавать стабильные водные суспензии с высокой концентрацией наночастиц определенного состава, размера и формы. Лазерная абляция в жидкости представляет собой уникальный метод получения водных суспензий чистых благородных металлов и оксидов металлов с контролируемыми параметрами наночастиц. Суспензии наночастиц Au, Ag, CuO, NiO, PbO, ZnO, Fe₂O₃, Mn₃O₄, SiO₂, Al₂O₃, TiO₂, PbO, CdO, PbS, CdS и SeO с концентрацией до 0,5 г/л использовались для исследования влияния наночастиц на биологические ткани и клетки.

Импульсный волоконный иттербиевый лазер (1064 нм, 100 нс и 21 кГц) использовался для абляции чистой металлической мишени в деионизованной воде и последующей фрагментации полученной суспензии. Синтез наночастиц производился в несколько стадий: (1) обработка поверхности при помощи сканирования фокусированным лазерным пучком, (2) лазерная абляция мишени, (3) фрагментация суспензии, (4) нагрев для самоорганизованного изменения размера и формы наночастиц за счет роста и агрегации, (5) сушка для увеличения концентрации суспензии. Оптимизированная технология позволила производить необходимые водные суспензии со стабильностью более месяца из сферических наночастиц размерами от 10 до 60 нм. Функция распределения размеров наночастиц измерялась с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания) и путем статистического анализа изображений, полученных с помощью сканирующего электронного микроскопа Auriga CrossBeam (Carl Zeiss, Германия). Состав наночастиц определялся с помощью конфокального микроскопа комбинационного рассеяния Alpha 300 AR (WiTec, Германия). Структура отдельных наночастиц определялась из дифракционных

изображений, полученных с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEM-2100 (JEOL, Япония). Общая концентрация металла в образцах печени, почек, селезенки и мозга крыс, подвергавшихся длительному воздействию наночастиц, определялась методом атомно-эмиссионной спектроскопии с помощью атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно-связанной плазмой iCAP 6500 Duo (Thermo Scientific, США). Образцы гомогенизированной ткани после лиофильной сушки растворялись в кислоте с помощью микроволновой системы MARS 5. Содержание наночастиц парамагнитных металлов определялось методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) с помощью ЭПР спектрометра EMX Plus (Bruker, Германия).

Влияние наночастиц на альвеолярные макрофаги исследовалось *in vivo* с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) с использованием сканирующего зондового микроскопа NTEGRA-Therma (NT-MDT, Россия). Обнаружено, что фагоцитоз наночастиц изменяет морфологию поверхности клеток на наноуровне. Размеры ямок на поверхности, выявленных с помощью АСМ в клетках крыс, подвергавшихся воздействию наночастиц, близки к размерам использованных наночастиц. Положение наночастиц в образцах ткани крыс и вызванные ими деструкции были выявлены с помощью сканирующего просвечивающего электронного микроскопа Merlin (Carl Zeiss, Германия).

Все экспериментальные методы использовались для проведения комплексных нанотоксикологических исследований совместно с учеными Екатеринбургского медицинского-научного центра профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий.

Использовалось оборудование Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии» института естественных наук и математики Уральского федерального университета.

**V.A. Antonov, V.Ye. Zhukov, I.G. Frolova, Yu.I. Velikorodnaya,
I.K. Gorkina**

**TOXICOKINETICS AND TOXICODYNAMICS OF
ALUMINUM MICRO- AND NANOFORMS**

*Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology,
Volgograd, Russian Federation*

Sanitary and hygienic monitoring of enterprises using powdered aluminum gives evidence of the fact that, apart from micro-sized particles, aluminum nanoparticles are also present in the workplace air and their proportion may reach 88 %. Occupational health risk assessment from potential hazards of nanotechnologies necessitated comparative toxicological characteristics of aluminum particles of both dimensions.

The study objects were L-ALEXTM and ASD-1 aluminum powders with the dispersion of 82.3 nm and 2.4 μ m, respectively. The experiments were carried out on white outbred male rats. Aluminum in both dimensions was instilled intratracheally once in the amounts of 10.0 and 50.0 mg per animal, which corresponded to doses of 40.0 and 200.0 mg/kg. Testing of animals was carried out in dynamics.

We established that a day after the substance instillation in the lower dose, the residual mass fraction of micro- and nano-aluminum (micro-Al and nano-Al) in the lungs was 28.1 % and 53.1 %, respectively. When the substance was administered in the dose of 200.0 mg/kg, the residual amount of the microform was 57.0 %, and that of the nanoform – 62.3 %. In subsequent periods, a statistically significant decrease in the content of only nano-Al was registered.

The comparison of lung clearance indices (mg/h) for both forms revealed their direct correlation with the exposure level.

Intratracheal instillation of aluminum microparticles (200.0 mg/kg) caused an increase in the relative lung mass coefficient on days 7 and 14. The use of nano-powder in both doses caused the mass change starting from the first day.

The results of histological analysis of lung tissue showed dose-dependent single to multiple granulomatous formations in all animals exposed to micro-Al. Nano-Al, in its turn, induced rapidly progressive interstitial granulomatous form of aluminosis with the formation of epithelioid cell granulomas and giant cell granulomas at all tested exposure levels. In addition to the lung tissue, nano-Al particles were also found in the mediastinum lymph nodes in experimental rats following the exposure to both 40.0 mg/kg and 200.0 mg/kg of aluminum

nanoparticles, while micron-sized particles were found in the lymphoid tissue of those animals that were exposed to the maximum dose.

Conclusions:

1. Regardless of the exposure level and the aluminum particles size, the largest amount of the substance is cleared from the lungs during the first day.
2. The clearance rate of both nanodispersed and microdispersed aluminum correlate with the exposure level.

Aluminum nanoparticles induce more pronounced morphostructural changes in the lung and lymphoid tissues compared to their microdispersed counterparts.

УДК615.9:615.099.092:577:669.22:616.8-009:57.084.1

A.A. Antsiferova¹, M.Yu. Kopaeva¹, V.N. Kochkin¹, P.K. Kashkarov^{1,2}

**ACCUMULATION OF SILVER NANOPARTICLES IN
MAMMALIAN BRAIN AND THEIR INFLUENCE ON
COGNITIVE FUNCTIONS**

¹ *National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow, Russian Federation*

² *Lomonosov Moscow State University, GSP-1, Moscow, Russian Federation*

Silver has been used since ancient times for medicinal purposes due to its antiseptic properties. So, in the Hindu (Ayurvedic and religious) literature, it is mentioned about the disinfection of water by immersing hot silver in it, or with prolonged contact with metallic silver under normal conditions. Knights of the Knights of the Hospitaller Order applied the unique properties of silver too. So, in the 16th century, use of silver dishes helped to prevent intestinal infections among the knights during the attacks of the island of Malta by the Ottoman Turks. Thus, it helped the knights to repel an attempt to seize the island by Turks. After 1800, in addition to metallic silver, its salts (lapis) and colloidal silver (protargol, argirol) began to be used. Currently, the application of silver nanoparticles is widespread in the food, light and pharmaceutical industries, as well as in medicine. They are used in dietary supplements, as coatings for wound dressings, in packaging materials, as a preservative for food products, in textiles, etc. Silver compounds, including their nanoparticles, can have a toxic effect not only on pathogens, but also on healthy cells. The mechanism of the toxic action of silver, as a rule, is associated with the generation of reactive oxygen species by its ions. In this case, silver nanoparticles, most likely, can

have a prolonged effect in the form of a depot for ions. Therefore, it is important to understand the potential risks of using such nanoparticles.

In the present work, the effect of long-term oral administration of silver nanoparticles on the cognitive functions of laboratory mammals was investigated, as well as silver accumulation curves in the brain and its parts were obtained and histopathological characteristics were studied.

Materials. A food supplement based on silver nanoparticles with a size of 34 ± 5 nm and stabilized with polyvinylpyrrolidone was investigated.

C57Bl / 6 male mice were used as a mammalian model. The animals were kept in individual cages throughout the experiment. The introduction of silver was carried out for 30, 60, 120 and 180 days in the composition of drinking water in an amount of 50 µg/day/animal. Control mice received deionized water.

Methods. The size distribution of silver nanoparticles and the stability of solutions were determined by Dynamical Light Scattering. To study cognitive functions, a conditioned reflex freezing model was used, which made it possible to assess long-term contextual memory. The silver content in the brain and its parts (hippocampus, cerebellum, cortex, and remnant) was determined by Neutron Activation Analysis based on the activity of the ^{110m}Ag isotope. For histopathological studies, samples were stained according to Nissl and examined using light microscopy.

Results. The dependence of the mass of silver in the brain on the period of nanoparticle administration is a monotonically increasing function. Apparently, the expected saturation is not achieved at the studied times of administration. Also, it was determined that silver accumulates in all the examined parts of the brain. Relatively high silver concentrations were observed in the hippocampus and residual brain. Histopathological studies showed that starting from 120 days of nanoparticle administration, loosening of the CA2 region of the hippocampus was observed. After 180 days of nanoparticle administration, a decrease in long-term contextual memory was found.

Conclusions. Long-term oral administration of nanoparticles can be unsafe and irreversible. Apparently, the accumulation of silver in the brain and loosening of the CA2 region led to cognitive impairment. Also, the cause of changes in cognitive functions can be effects at the general body level.

Acknowledgments. The research was financially supported by Russian Foundation for Basic Research (grant N 21-315-70016)

G.F. Gabidinova, L.M. Fatkhutdinova

PRINCIPLES OF ASSESSING GENOTOXICITY OF CARBON-BASED NANOMATERIALS IN VITRO

Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

Introduction of new nanomaterials (NM) into industry requires understanding of effects of these materials on the environment and human health. The genotoxic effect of nanomaterials on cells raises major safety concerns.

Genotoxicity describes the property of chemical or physical agents that can alter genetic information. Genotoxic events can be temporary or can lead to mutations in the amount or structure of genetic material in a cell. A mutation in a germ cell is passed on to the next generation and may induce a hereditary disorder. In somatic cells, a critical gene mutation may cause cancer. Thus, each mutagen is considered to be potentially carcinogenic.

Direct and indirect mechanisms of genotoxicity of nanomaterials (NMs) are distinguished. NMs captured by cells can come into direct contact with genetic material causing physical or chemical damage. However, the most likely mechanism of NM-induced genotoxicity is indirect, via intermediate biomolecules. The key indirect mechanism of NM-induced genotoxicity is oxidative stress. Induction of reactive oxygen species (ROS) by NM can damage DNA and other cellular components. These two mechanisms are primary. Secondary mechanisms of genotoxicity are mediated by extracellular ROS through inflammatory reactions of macrophages and neutrophils. In addition, the small size and properties of nanomaterials can determine the effect of specific mechanisms: in the case of nanotubes, there are studies demonstrating their ability to mimic microtubules, thereby disrupting the process of cell division.

The principles of genotoxicity testing established for chemical compounds are often used for the study of nanomaterials but they require optimization and special attention to some details. Thus, physicochemical characterization of nanomaterials, the study of the uptake of nanoparticles by cells, and the study of general mechanisms of genotoxicity are mandatory.

Physicochemical characterization of nanomaterials is carried out using high-resolution microscopic methods, X-ray structural analysis, and mass spectrometry. For the analysis of suspensions, such methods as dynamic light scattering, nanoparticle tracking analysis, and electrophoretic light scattering are applied.

Before testing for genotoxicity, it is necessary to know the cytotoxicity of the NMs tested in order to select the appropriate concentration range. The most

important tests are based on the determination of cell viability. The popular MTT assay is a colorimetric test that evaluates the metabolic activity of cells. In addition, viability can be determined using microscopy, flow cytometry, and determination of lactate dehydrogenase.

Genotoxicity can be assessed only after the preliminary steps. The strategy should cover important endpoints of genotoxicity, including DNA damage, gene mutations, and chromosomal damage. The *in vitro* mammalian gene mutation test, usually performed using mouse lymphoma cells, detects a wide range of genetic damage, including gene deletions. The most common test for detecting chromosomal damage is a micronucleus assay *in vitro*. DNA strand breaks are most often assessed using the comet assay (single-cell gel electrophoresis).

Our study aimed to investigate the potential genotoxicity and its mechanisms when exposed to carbon nanotubes of various types produced at Russian innovative enterprises. The cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes has been assessed on the cell lines BEAS-2B and RAW264.7 so far. During the experiment, we established penetration of the studied materials into cells while its mechanisms remain unclear. The effect of the test materials on BEAS-2B and RAW 264.7 cells had no cytotoxic and proapoptogenic outcomes.

УДК 615.9:615.099.092:577:615.777.9:616.12:57.084.1

O.P. Gertsen¹, S.R. Nabiev¹, S.V. Klinova², I.A. Minigalieva²,
B.A. Katsnelson², L.V. Nikitina¹

COMPARATIVE ANALYSIS OF EFFECTS OF LEAD AND CADMIUM SALTS AND NANOPARTICLES ON FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF MYOSIN IN HEART CHAMBERS OF RATS

¹ *UB RAS Institute of Immunology and Physiology, UB RAS Institute of Immunology and Physiology, Yekaterinburg, Russian Federation*

² *Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, Russian Federation*

Cardiovascular diseases are the main cause of death worldwide; they account for almost 32 % of global deaths and over 50 % of all deaths in the Russian Federation, thus necessitating research on the heart structure and function in normal and pathological conditions. Since all chambers of the heart are structurally and functionally different and contain various levels of

contractile proteins, it is expedient to study each chamber taken separately for a better picture of how the heart functions.

Toxic compounds of lead and cadmium affect the structure and function of the heart, contributing to the onset and exacerbation of cardiovascular diseases. Lead and cadmium are present in the air, household dust, soil, water, food, and many consumer products. They accumulate and persist in the environment posing risks of adverse health effects of toxic exposure many years after the cessation of industrial emissions. Lead and cadmium also accumulate in the bone and other tissues of humans and animals with a half-life lasting decades.

Compounds in the form of nanoparticles are more readily available at the cellular level compared to particulates and their effect is, therefore, more detrimental. Studies of the impact of lead and cadmium nanoparticles on the contractile function of the myocardium at the level of isolated proteins have not been conducted so far despite all the assumptions of their immediate effect on contractile proteins.

A solution of lead acetate and cadmium chloride (6.01 and 0.377 mg/kg body weight of lead and cadmium, respectively) was injected intraperitoneally to outbred rats thrice a week, up to 18 injections at a time. Sterile water was injected to control rats.

The *in vitro* motility assay was used to determine the sliding velocity of regulated thin filaments consisting of actin, troponin, and tropomyosin on myosin isolated from different parts of the heart.

Chronic intoxication with lead salts slowed down the maximum sliding velocity of the reconstructed thin filament ($V_{\max R}$) on myosin of the atria, right and left ventricles by 26 %, 24 %, and 19 %, respectively.

Chronic intoxication with cadmium salts reduced $V_{\max R}$ on atrial myosin by 20 % while increasing $V_{\max R}$ by 26 % and 3 % on myosin of the right and left ventricles, respectively.

Combined chronic toxic exposure to lead and cadmium salts decreased $V_{\max R}$ of thin filament on atrial and left ventricular myosin by 28 % and 12 % while increasing that on the right ventricular myosin by 12 %.

Chronic intoxication with lead nanoparticles slowed down the maximum sliding velocity of the native thin filament ($V_{\max N}$) on atrial, right and left ventricular myosin by 14 %, 12 %, and 16 %, respectively.

Chronic intoxication with cadmium nanoparticles reduced $V_{\max N}$ on atrial myosin by 6 % and on that of the right and left ventricles – by 5 % and 8 %, respectively.

Combined chronic toxic exposure to lead and cadmium nanoparticles caused a reduction in $V_{\max N}$ of filament on atrial myosin by 26 %, on myosin of the right and left ventricles – by 7 % and 19 %, respectively.

We conclude that manifestation and extent of adverse health effects of toxic exposure depends both on the form of the xenobiotic (salt or nanoparticle) and on the specific part of the heart.

УДК 615.9:615.099.092:577

I.F. Gette¹, A.A. Ostroushko², I.G. Danilova¹, M.O. Tonkushina²
**COMPARISON OF TOXIC EFFECTS OF NANOCLUSTER
IRON-MOLYBDENUM POLYOXOMETALATES AND A
MIXTURE OF THEIR COMPONENTS**

*¹Institute of Immunology and Physiology UB RAS, Yekaterinburg,
Russian Federation*

*²Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin,
Yekaterinburg, Russian Federation*

Several studies indicate a stronger toxic effect of nanomaterials containing metal oxides compared to salt solutions of metals and metal oxides, but little attention is paid to comparing toxicity of nanoparticles and their specific components. In our previous study, we observed less pronounced changes in the concentration of nucleic acids and histone proteins in blood lymphocytes of rats exposed to iron-molybdenum polyoxometalates (POMs) compared to those exposed to a mixture of POM components. Application of POMs in medicine seems promising thanks to their low toxicity, ability to form associates with biologically active compounds, electrophoretic transport, decomposition into constituent elements utilized by the body, inability to accumulate in liver, kidney and bone tissues upon subchronic administration. At the same time, health effects of POMs and their constituents remain poorly investigated. The study aimed to reveal the effect of single and multiple subchronic exposures to iron-molybdenum polyoxometalates and a mixture of POM components on biochemical and hematological parameters in rats.

Materials and methods. Fifty male Wistar rats weighing 220-280 g were used in the experiment; the keeping and handling of animals were in accordance with EU Council Directive 2010/63/EU. We divided animals into three groups: controls (1), POM exposure (2) and POM component exposure (3). Groups 2 and 3 were divided into subgroups of five rats receiving 1, 7 and 30 intramuscular injections of a POM solution or POM components' solution in water for injection in a daily dose of 1.5 mg/kg. The rats were withdrawn from the experiment on days 1, 7 and 30, respectively. The mixture of POM

constituents was obtained by POM destruction with an increase in pH and neutralization of the solution. Biochemical and hematological methods were used.

Results and discussion. One, seven and thirty POM injections induced no changes in the activity of AST, ALT, alpha-amylase, alkaline phosphatase (ALP), and bone isoenzyme of ALP, the content of total protein, urea and creatinine in the blood plasma of the exposed animals compared to the controls. These results indicate no cytolytic syndrome, including that in the liver and myocardium, no damage to the acinar part of the pancreas, changes in bone tissue, preservation of the protein-synthetic function of the liver or kidney filtering capacity. The increase in the glucose level and the AST/ALT ratio following seven POM injections was probably associated with the procedure of intramuscular injections requiring 30 days of adaptation itself. Seven-fold administration of POM components induced an increase in glucose blood levels, AST and ALP activity and a decrease in AST/ALT ratio; the last two parameters exceeded the normal levels on the 30th day.

During the whole experiment, the POM exposure caused the increase in the levels of hemoglobin, erythrocytes, the content and level of hemoglobin in erythrocytes, and hematocrit. The exposure to POM components induced only the increased hemoglobin level by the 7th day while the number of platelets decreased over the same period. We observed a decrease in the count of leukocytes, lymphocytes, granulocytes, and mid cells following one and seven injections of POM and their normalization by the 30th day. Following the exposure to POM components, leukocyte, lymphocyte, and mid cell counts decreased to a greater extent and failed to normalize after 30 injections.

Conclusion. The effect of POM could be assessed as less toxic compared to that of POM components not organized into nanoparticles. Intramuscular injection of POM, in contrast to POM constituents, induced the increase in blood hemoglobin levels and erythrocyte count and was accompanied by less pronounced leukopenia.

The studies were carried out within the assignment of the Russian Ministry of Science and Higher Education (Projects No. 4.6653.2017/8.9 and No. AAAA-A21-121012090094-7).

V.A. Hrynychak, S.I. Sychik

**CURRENT ISSUES OF COMPREHENSIVE
TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC ASSESSMENT OF
NANOMATERIALS FOR MEDICAL APPLICATIONS**

Scientific and Practical Center for Hygiene, Minsk, Republic of Belarus

Currently, owing to the size and physicochemical properties of nanomaterials, medical products and devices that produce, contain, or consist of such materials are widely used in clinical practice. A medical device is considered a nanomaterial if its external and internal parameters or structures have a size of 1–100 nm. The nanomaterials can be powders or colloidal dispersions, form a part of the matrix and/or surface of the product. The use of nanotechnologies has helped obtain new suture materials such as polylactic acid fibers that can adhere without glue to the edges of a surgical incision and close it from the external environment, preventing infection and improving healing. The material is self-absorbable, so sutures do not need to be removed.

Nanomaterials are able to move through the body and be captured by tissues; they can affect biological processes at the cellular, subcellular and biomolecular levels being able to cross not only the cell membrane, but also intracellular structural elements, interacting and changing the basic cellular functions. In addition to the dose and elemental composition of nanomaterials, such factors such as particle shape, surface area, function, ability to form agglomerates and surface charge play a decisive role in their distribution in the human body and toxicity.

Today, according to the state register of medical devices and products, more than forty medical items consisting of nanomaterials produced in the U.S., the Russian Federation, Italy and the Republic of Belarus are registered and eligible for sale on the territory of the Republic of Belarus.

In accordance with the “General Requirements for Safety and Efficiency of Medical Devices, Requirements for their Labeling and Specifications” approved by Decision No. 27 of the Council of the Eurasian Economic Commission on February 12, 2016, the label and instructions for use of a medical product shall declare the presence of nanomaterials in it, if the latter are not contained in a bound state that excludes the possibility of consumers’ exposure to them when used as intended.

According to guidelines of the Board of the Eurasian Economic Commission on the list of standards, a voluntary application of which, fully or partially, ensures compliance of medical devices with the above General Requirements, the studies of biological effects of medical products containing

nanomaterials are conducted in accordance with GOST ISO 10993-22-2020, *Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 22. Guidance on nanomaterials*. This international standard is a guideline describing the amount of knowledge at the time of its preparation and containing no specific methods for studying biological effects of nanomaterials for medical purpose. Application of traditional approaches to assessing biological effects of medical devices outlined in the ISO 10993 series can lead to inadequate assessment of nanomaterials because of their potency to cross all protective barriers of the body and reach organs and systems inaccessible to conventional materials. The biological effect depends neither on the concentration nor the number of molecules, but on the nanomaterial itself.

We believe that the existing methodology for toxicological and hygienic assessment of medical devices underestimates the potential toxicity and health hazard of nanomaterials in medical devices, thus increasing the relevance of further research on the topic.

УДК 615.9:577:669.227

Anca Oana Docea¹, Daniela Calina²
**IN VIVO TOXICOLOGICAL EVALUATION OF SILVER
NANOPARTICLES**

*¹Department of Toxicology, University of Medicine and Pharmacy of Craiova,
Craiova, Romania*

*²Department of Clinical Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy of
Craiova, Craiova, Romania*

Inappropriate use of antibiotics is one of the causes of the development of multiple resistance bacteria. Silver nanoparticles (AgNPs) are seen as an excellent option for treating bacterial, fungal and viral infections because, in addition to having a marked antibacterial profile, they contribute to wound healing, are durable and effective, and are relatively inexpensive. We synthesized AgNPs functionalized with ethylene glycol (EG) by reduction reaction of silver nitrate in an alkaline solution of EG and sodium hydroxide. The sub-chronic toxicity Ag-EG NPs was tested on 40 rats of the 12-week CD-SD species. Animals were divided into 4 groups of 10 rats per group (5 females and 5 males) and exposed for 28 days intraperitoneally at 0 mg/body weight; 1 mg/kg body weight Ag-EG, 2 mg/kg body weight Ag-EG, 4 mg/kg of Ag-EG body. At the end of the study the animals were sacrificed and the blood was collected for complete biochemical evaluation, and the liver, kidney, spleen,

heart, lung, and brain were harvested for histopathological analysis. AgNPs functionalized with EG showed low toxicity at the maximum tested doses of 4 mg/kg body weight administered intraperitoneally, showing promising results for clinical application.

УДК 615.9:615.099.092:577:661.846.22:57.084.1

V.Yu. Zinovkina, V.M. Vasilkevich, R.V. Bogdanov, N.A. Gurskaya
**FEATURES OF THE BIOLOGICAL ACTION OF
MAGNESIUM OXIDE NANOPARTICLES IN A SUBCHRONIC
EXPERIMENT**

Scientific and Practical Center for Hygiene, Minsk, Republic of Belarus

Today, magnesium oxide (MgO) nanoparticles are widely used in food and chemical industries, medicine and pharmaceuticals, electronics and optics, in the production of high-quality ceramics, paper, fungicides, as an additive to fuel and an agent for purification of petroleum products. In general, it is necessary to note the growing demand for MgO nanoparticles.

Despite the 20-year history of the global use of nanomaterials, none of them has been studied completely, which impedes assessment of potential health risks posed by their application. It has been established that MgO nanoparticles have a high degree of potential health hazard due to their ability to generate reactive oxygen species, cause lethal changes in cells, accumulate in various organs and induce their pathological changes, influence proteomic and metabolomic profiles, trigger genotoxic and embryotoxic effects. Considering the wide range of applications of MgO nanoparticles in various fields of human activity and potential risks of their exposure, the research on the biological effects of magnesium oxide is relevant.

We studied experimental samples of MgO nanoparticles produced in B.I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus using one of the methods of physical synthesis, having the following characteristics: the size of MgO nanoparticles ranged from 30 to 50 nm, the hydrodynamic diameter of more than 80 % of particles was 50–240 nm, and the value of the ξ -potential in a colloidal solution was 15.3 ± 0.7 mV. The MgO nanoparticles were stabilized in a colloidal solution with distilled water. The biological effect of MgO nanoparticles was studied in a subchronic experiment conducted on nonlinear rats in compliance with the requirements for humane treatment of animals. Groups of eight animals each were formed randomly. MgO nanoparticles were injected intragastrically through a probe at doses of

100, 200 and 400 mg/kg for 3 months. A group of control animals received distilled water in the appropriate amount. After cessation of exposure, we studied the organs and systems of the rat and established their morphofunctional and biochemical parameters. Statistical processing of experimental data was performed by nonparametric methods using the licensed software STATISTICA 13.

Following intragastric exposure to MgO nanoparticles at doses of 100, 200 and 400 mg/kg, the most pronounced changes in organs and functional systems of the body were noted in response to the highest dose. The predominance of excitation processes was observed in the central nervous system (the value of the summation subthreshold potential decreased in the experimental groups at doses of 200 and 400 mg/kg by 19.3 % and 30.8 %, respectively, $p < 0.05$). In relation to liver, we found inhibition of activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in blood serum. The impaired renal function was manifested by alkaline urine ($p < 0.05$) and a decreasing daily diuresis. As for morphological indicators, we established a statistically significant 10 % increase in liver mass and a 10 % to 20 % decrease in the mean heart mass. Clinical and diagnostic indicators revealed changes in peripheral blood ($p < 0.05$) manifested by decreased hematocrit (by 1.08 times), increasing color index, lymphocytosis, monocytopenia, and an increasing platelet count. A significant increase in total protein was determined in blood serum (at a dose of 400 mg/kg, its level was 1.28 times higher than that in the controls, $p < 0.05$) accompanied by decreased contents of chlorides, glucose and lipids ($p < 0.05$).

Based on the results of the subchronic experiment with intragastric exposure, we established the ability of MgO nanoparticles to cause dose-dependent toxic effects on the body.

S.V. Klinova¹, I.A. Minigalieva¹, M.P. Sutunkova¹, V.G. Panov^{1,2}, Y.L. Protsenko³, B.A. Katsnelson¹

**CARDIO-
AND VASOTOXICITY OF LEAD AND CADMIUM
NANOPARTICLES**

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

² *UB RAS Institute of Industrial Ecology, Yekaterinburg, Russian Federation*

³ *UB RAS Institute of Immunology and Physiology, Yekaterinburg, Russian Federation*

According to the World Health Organization (WHO), diseases of the cardiovascular system (CVD) are the leading causes of death worldwide. Pollution of occupational and non-occupational environment with toxic metals, especially lead and cadmium, is one of the risk factors for CVD. Many researchers have demonstrated that toxic exposures to lead and cadmium increase the risk of CVD. Inhalation exposure to metal nanoparticles in the workplace air is particularly dangerous. Effects of nanoparticles (NPs) on the cardiovascular system have been poorly studied so far.

The study aimed to analyze the effect of lead and cadmium oxide nanoparticles (PbO NPs and CdO NPs) on the cardiovascular system.

Suspensions of metal oxide nanoparticles (2.32 mg for Pb and 0.22 mg for Cd per kilogram of body weight) were obtained by laser ablation. The particles had a near-spherical shape. Their mean diameter ($\pm$ standard deviation) was 49.6 ± 16.0 nm for PbO NPs and 57.0 ± 13.0 nm for CdO NPs. Toxic exposure was simulated on white outbred male rats, randomly divided into four groups (control, PbO NPs, CdO NPs, and PbO NPs + CdO NPs exposures), twelve animals each. The age of the animals at the beginning of the experiment was 2.5 months, the weight was about 225 g. Nanoparticle-containing suspensions were injected intraperitoneally, either separately or in combination, thrice a week during six weeks. At the end of the experiment, the electrocardiogram (ECG) parameters and arterial blood pressure in animals were recorded non-invasively; specific parameters of blood serum, including concentration of calcium, endothelin-1, natriuretic peptides, and activity of angiotensin converting enzyme (ACE) were studied followed by a histological analysis of heart tissues. Myocardial contractility was assessed using isolated multicellular preparations, i.e. trabeculae and papillary muscles in isometric and physiological modes of contractions. The response surface methodology was used for mathematical description of the combined toxicity.

A decrease in the level of calcium and endothelin-1 was observed following the exposure to PbO NPs and CdO NPs, both separately and in combination. The concentration of natriuretic peptides decreased in the combined exposure group. Exposure to PbO NPs lowered the ACE level both in isolation and in combination with CdO NPs.

In all experimental groups, a decrease in blood pressure (BP) parameters was observed, which was most pronounced for mean BP. ECG changes following different exposures were ambiguous.

Histological preparations demonstrated thinning of cardiomyocytes following all three toxic exposures to NPs.

In the group of exposure to PbO NPs, time to peak force and relaxation time in the papillary muscles increased by 50 % of the maximum amplitude. At afterloads $P = 0.7-0.9P/Po$, the PbO NPs + CdO NPs exposure reduced the force – velocity ratio in trabeculae. In the same group, we observed a decrease in the end systolic length in the trabeculae at $P = 0.1-0.7 P/Po$. In all groups of rats exposed to NPs, the work done by cardiac muscles decreased: in the trabeculae following the exposure to CdO NPs and PbO NPs + CdO NPs, and in papillary muscles – following those to PbO NPs and CdO NPs.

The type of combined cardiovascular toxicity of PbO NPs and CdO NPs is ambiguous. It depends on the effect of toxic exposure, its extent, the ratio of doses of toxicants, the degree of stretching of cardiomyocytes, and the type of muscles under study.

The influence of PbO and CdO nanoparticles was manifested by decreased hemodynamic parameters, obvious signs of dystrophy of the myocardium and corresponding decrease in its efficiency.

E.V. Kovalevskiy^{1,2}, I.V. Bukhtiyarov^{1,2}, S.V. Kashanskiy³,
I.M. Tskhomariia^{1,2}

METHODOLOGICAL PROBLEMS OF AIR POLLUTION CONTROL BY NANOPARTICLES ON THE EXAMPLE OF NATURAL NANOTUBES

¹*Federal State Budgetary Scientific Institution «Izmerov Research Institute of Occupational Health» (IRIOH), Moscow, Russian Federation;*

²*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation;*

³*Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, Russian Federation*

The main condition for correct management decisions on the development of preventive measures during occupational contact with nanosized particles and fibers is an objective characteristic of the exposure. Total mass and mass of individual size fractions of aerosol, surface area and number of particles are used as the exposure indices. With regard to nanosized particles, the traditionally main integral control index (particle mass) needs to be supplemented by at least data on the number of particles.

There are direct and indirect methods for the air pollution control. Direct ones are methods for determining concentration in indices that fit the physical properties of the particles, which are the measurement's base. Indirect methods are intended for obtaining indices of the air dustiness level, based on the use of any property of dust particles, different from the ones that are used to express this index. Despite the increasingly widespread use of devices for the indirect determination of dust concentrations, including those with separation into individual fractions, direct methods are still prioritized in world practice to obtain comprehensive exposure characteristics. Among them, the use of electron microscopy (EM) is considered as one of the most priority areas, which makes it possible to maximally characterize dust particles in the air samples, especially fine particulate matter, nanosized and fibrous ones.

The development of modern approaches to the control of nanosized particles in air, primarily nanofibers, can be illustrated by the example of natural nanotubes. Naturally occurring phyllosilicates (silicate-based layered structures) are structurally diverse, and some of them have the ability to form nanotubes. The layers of silicon-oxygen tetrahedra in their structure are separated from each other and linked by cations. Such structure have talc, serpentine, palygorskite, micas, hydromicas, chlorites, clay minerals, titanosilicates, uranosilicates and many others.

Nanosized tubes (nanotubes) predominantly are formed by magnesium and aluminosilicates. All of them, to varying degrees, are used in various industries and, under certain conditions, may cause negative effect on human health. The most known is chrysotile asbestos or chrysotile (fibrous serpentinite), the visible fibers of which consist of bundles of nanotubes.

The widest use of chrysotile in the XX century, along with other varieties of "asbestos" – needle-like crystals of ferrosilicates (fibrous amphiboles) and the possibility to provoke in conditions of uncontrolled exposure a number of occupational diseases, including cancer, caused serious attention to the development of methods for controlling their content in working zone air. Taking into account the fibrous structure, which determines significant differences from non-fibrous particles in the ability to stay in the air for a long time, penetrate and deposit in the lower respiratory tract, interact with organs and tissues, control indices expressed in the mass of particles were found insufficient, indirect control methods are inapplicable and there were proposed exposure indices expressed in number of fibers of a certain size per unit volume of air, determined using optical microscopy (OM) and EM.

The experience of the practical use of these methods convincingly demonstrates the critical importance of not only careful choice of air sampling methods, materials and equipment used (filters and samplers, OM and EM with the required characteristics and, in case of EM, equipped by appropriate tools for studying the type and composition of fibers, as well as various auxiliary equipment), but also highly qualified operators. This experience seems to be valuable for the further development of approaches of determination of exposure characteristics, including man-made nanotubes and nanoparticles.

A.I. Kolobanov, A.A. Shumakova, I.E. Sokolov, I.V. Gmoshinski
**EFFECT OF ORALLY ADMINISTERED NANOCLAY
PARTICLES ON THE ELEMENTAL COMPOSITION OF
ANIMAL ORGANS AND OTHER INDICATORS**

*Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
Moscow, Russian Federation*

Nowadays, bentonite clay (BC) is widely used in the food industry, in such areas as the production of beverages, food additives, packaging materials, adsorbents (for cleaning oils). However, data on its oral toxicity *in vivo* are inconsistent.

The study aimed to identify biological effects in terms of accumulation of elements in the liver and kidneys of laboratory animals treated with BC during a 92-day subacute experiment.

“Monamet 1H1®” bentonite clay (METACLAY JSC, Russia) was used for the experiment carried out on 64 male Wistar rats (4 groups of 16 animals each). The animals received semi-synthetic balanced diet according to AIN-93 with addition of BC dispersion in doses 0 (control); 1; 10 and 100 mg per kg body weight during 92 days of the experiment. The rats were weighed weekly and on the 93rd day of the experiment were taken out from the experiment after 16-hour fasting. Blood samples were taken and organs were weighed and frozen at -20 °C. Concentrations of Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, Gd, K, La, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, V, and Zn were analyzed in the liver and kidney of animals by inductively coupled plasma mass spectrometry.

Sample digestion was carried out using the TOPWAVE microwave pressure sample mineralization system in a 5:1 solution of concentrated nitric acid and concentrated hydrogen peroxide followed by the analysis using an Agilent Technologies 7700x inductively coupled plasma mass spectrometer.

In the liver of the rats treated with BC, a significant dose-dependent decrease in the content of B, Be, Ce, and Cs compared to the control group was observed and confirmed by the factor analysis of variance ($p < 0.05$). The content of such vital elements as K, Mg and Na, which are the main structural elements of cells and living organisms, did not change in animals receiving different doses of BC compared to the control group (factor analysis, $p > 0.05$). There were also no significant changes in the content of Ag, As, Ca, Cr, Ga, Se, Tl, and Zn depending on the BC dose, although the differences with the control group were statistically significant. It is interesting to note that while the content of Ag, As, Ca, Ga, Se, and Tl in liver of the exposed rats decreased to some

extent compared to the controls, the content of Cr and Zn, on the contrary, increased (insignificantly in absolute value). No significant changes were found in the accumulation of such elements as Al, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Gd, La, Mn, Ni, Pb, Rb, Sr and V in liver of the exposed animals compared to the control group (ANOVA, factor analysis, $p > 0.05$). In kidneys, significant (ANOVA, $p < 0.05$) dose-dependent changes in accumulation were observed in animals receiving BC for Mg and P (decrease), Cs and Ag (increase), which, however, was confirmed by factor analysis ($p < 0.05$) only for P. The content of B, Ba, Be, Ca, Cd, Ce, Cu, Fe, Ga, K, La, Mn, Se, Sr and Zn in the exposed animals decreased compared to the control group with Ca, Fe, K, La, and Zn demonstrating a significant trend in dose dependence.

Our findings qualitatively correlate with the data reported in [Shipelin VA, Shumakova AA, Musaeva AA, *et al.* Peroral toxicological assessment of bentonite nanoclay used in the food industry. *Voprosy Pitaniya*. 2020;89(3):71–85], in which we demonstrated the effect of BC on the inhibition of protein catabolism with a simultaneous increase in body weight of animals, the development of immune response and inhibition of growth of bifidoflora. We may conclude that the adverse health effects are associated with the suppressive effect of BC on symbiotic intestinal microflora and, as a consequence, a decrease in the accumulation of several elements, including toxic and essential elements. These findings should be considered when assessing the risks posed by the use of BC in the food industry.

УДК 615.9:614.777:577:669.22

A.A. Maslennikov, S.A. Demidova, O.N. Novikova, V.A. Antonov
**EXPERIMENTAL EVALUATION OF EFFECTS OF SILVER
NANOPARTICLES ON GENERAL SANITARY
CHARACTERISTICS OF WATER IN WATER BODIES**

*Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology,
Volgograd, Russian Federation*

During the experimental substantiation of the maximum permissible concentration of spherical silver nanoparticles (20–40 nm diameter; 10 to 90 percentile) in the water of water bodies used for household, drinking, and recreational purposes, we studied their negative effect on the main processes of water self-purification established by the biochemical oxygen demand (BOD₂₀), the life cycle of saprophytes, and nitrification rates (nitrogen triad). The studies

were conducted in accordance with the requirements of current guidelines MU 2.1.5.720-98, *Substantiation of hygienic standards of chemicals in water of water bodies used for household, drinking and recreational purposes*.

When setting up the experiment to determine BOD₂₀, the substance was introduced into water reservoirs in the following concentrations: 0.22; 4.4×10^{-2} ; 8.8×10^{-3} ; 1.8×10^{-3} , and 3.5×10^{-4} mg/L. The choice of above levels was based on the results of previous assessments of organoleptic and toxicological properties of silver nanoparticles on experimental animals.

During the first ten days, we observed a significant inhibition of aerobic oxidation in the water with three added maximum levels of the preparation of silver nanoparticles while the concentration of 3.5×10^{-4} mg/L demonstrated no significant deviations from corresponding control values.

To assess the life cycle of saprophytic microflora, we introduced the test substance in concentrations of 1.8×10^{-3} ; 3.5×10^{-4} , and 7.0×10^{-5} mg/L and then analyzed water samples 14 days after inoculation.

The results showed that two high levels of silver nanoparticles in the “artificial” reservoirs induced multidirectional negative changes in the number of saprophytic colonies having an adverse effect on self-purification of this ecosystem. The lowest added level of 7.0×10^{-5} mg/L neither inhibited nor stimulated the growth of these microorganisms.

The effect of silver nanoparticles on nitrification processes in water was assessed for their concentrations of 1.8×10^{-3} , 3.5×10^{-4} and 7.0×10^{-5} mg/L in “artificial” reservoirs. Testing of water samples was carried out one hour and then 1, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 23, 26, 27, 28, 29, 30, and 33 days following introduction of the substance. We observed a negative effect of two high levels on the nitrogen triad: from the beginning and up to the 17th day of the experiment, multidirectional shifts in nitrification processes at the stage of nitrate formation were noted. In subsequent days, while maintaining the indicated deviations, transformations were also recorded at the initial stage of ammonification and at the intermediate oxidative stage (nitrite-nitrogen). This fact indicates disruption of the processes of aquatic ecosystem self-purification, i.e., the imbalance in the ratio between the content of various nitrogen compounds necessary for normal functioning of the fauna and flora in water bodies. At the concentration of 7.0×10^{-5} mg/L, no significant differences from the control were registered during the entire experiment, enabling us to interpret this value as a subthreshold one.

The summary analysis of study results indicates the ability of silver nanoparticles to exert negative impact on the processes of water self-cleaning and self-healing. The concentration of silver nanoparticles of 3.5×10^{-4} mg/L is recognized as threshold while the level of 7.0×10^{-5} mg/L is the maximum inactive for the general sanitary criterion of hazard.

Comparison of the maximum inactive concentration obtained in the series of experiments with the same value previously established for organoleptic (8.8×10^{-3} mg/L) and toxicological (4.4×10^{-3} mg/L) signs of hazard gives evidence of the fact that the general sanitary indicator is the limiting factor in the experimental substantiation of the hygienic standard for silver nanoparticles with the diameter of 20-40 nm (10-90 percentile) in the water of water bodies used for household, drinking, and recreational purposes.

УДК 615.9:615.099.092:61

L.I. Privalova¹, M.P. Sutunkova¹, I.A. Minigalieva¹, V.B. Gurvich¹,
O.G. Makeyev², I.E. Valamina², T.V. Bushueva¹, S.V. Klinova¹,
Yu.V. Ryabova¹, S.N. Solovyova¹, Yu.L. Protsenko³, L.V. Nikitina³,
O.P. Gertsen³, B.A. Katsnelson¹

EXPERIMENTAL AND THEORETICAL ASPECTS OF INCREASING BODY RESISTANCE TO ADVERSE EFFECTS OF ELEMENTAL AND ELEMENT OXIDE NANOPARTICLES

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

²*Central Research Laboratory, Ural State Medical University of the Russian
Ministry of Health, Yekaterinburg, Russian Federation*

³*UB RAS Institute of Immunology and Physiology,
Yekaterinburg, Russian Federation*

Anthropogenic pollution of the environment can be persistent and difficult to eliminate while truly safe occupational exposure levels of certain chemicals are technically unattainable or presumably non-existent. As an additional way of managing health risks by reducing adverse exposures, biological prevention is aimed at enhancing defense mechanisms of the organism. This approach to managing health risks is especially relevant in case of multicomponent pollution of both occupational and non-occupation environment, which is typical of many industrialized territories.

Toxicological experiments were carried out on outbred white rats using three different routes of administration in a series of acute, subchronic and chronic experiments. Bioprotectors as part of the so-called bioprophylactic complexes (BPCs) were used in parallel with subchronic intraperitoneal inoculation of rats, during inhalation exposure, or before a single intratracheal injection of nanoparticles.

We applied a complex of methods of hygienic, toxicological analysis including techniques of bioprophylaxis, biochemical, cytochemical, functional, physiological, histological, and morphometric tests, optical, semicontact atomic force, scanning and transmission electron microscopy, and statistical methods of data analysis.

Specific methods of improving the body resistance to isolated and combined toxic effects of nanoparticles have been theoretically substantiated and experimentally tested. A series of experiments has demonstrated that toxicity can be reduced by increasing the body resistance to it using safe bioprotectors selected on the basis of general theoretical assumptions, taking into account both general toxicokinetic and toxicodynamic mechanisms of especially harmful effect, and the specifics of effect of certain toxicants in a nanoscale state. We substantiated and successfully tested in toxicological experiments the use of a number of bioprotectors that increase the body resistance to the genotoxic effect of nickel nanoparticles; pulmonotoxic effect of amorphous silicon dioxide nanoparticles; a combined toxic effect of oxide nanoparticles of copper, zinc and lead; lead and cadmium; aluminum, titanium, and silicon. We were first to demonstrate the cardiovasoprotective effect of the developed bioprophylactic complex against the combined effect of lead and cadmium nanoparticles. Of particular importance is the fact that bioprophylactic complexes significantly attenuated the genotoxic effect of the above combinations.

УДК 615.9:615.099.092:577:661.691.2:57.084.1

Yu.V. Ryabova¹, L.I. Privalova¹, I.A. Minigalieva¹, M.P. Sutunkova¹, V.B. Gurvich¹, O.G. Makeyev², T.V. Bushueva¹, R.R. Sakhautdinova¹, S.V. Klinova¹, S.N. Solovyeva¹, A.V. Tazhigulova¹, B.A. Katsnelson¹

FEATURES OF HEALTH EFFECTS OF SELENIUM OXIDE NANOPARTICLES

¹ *Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Yekaterinburg, Russian Federation*

² *Central Research Laboratory, Ural State Medical University of the Russian Ministry of Health, Yekaterinburg, Russian Federation*

Occupational exposure to selenium and its compounds, including nanoscale forms, occurs in glass production, rubber industry, metallurgy (in the processing of copper sludge, copper pyrite roasting, and production of

manganese, selenium and tellurium). Such a widespread occurrence necessitates an experimental assessment of its toxicity.

Subchronic intoxication of rats by repeated intraperitoneal injections (18 injections in total) of stable aqueous suspensions of selenium oxide nanoparticles in various dosages was manifested by weak shifts in health status indicators. We tested three doses of 3.6, 18 and 36 mg/kg body weight, which induced statistically significant changes from control indices by 14.9 %, 14.9 %, and 14.4 %, respectively. Nanoparticles were obtained by laser ablation at the Ural Federal University.

All doses tested caused a decrease in the activity of succinate dehydrogenase in blood lymphocytes reflecting the intensity of cellular metabolic processes, which is probably associated with the replacement of labile sulfur atoms in this compound with selenium. This assumption is consistent with the literature data on the replacement of sulfur by selenium nanoparticles in proteins. The number of eosinophils in smears and imprints of parenchymal organs increased, thus indicating the ability of selenium oxide nanoparticles to trigger signaling cascades in immunocompetent cells. Total doses of 18 and 36 mg/kg body weight provoked changes of almost the same degree of severity including, inter alia, a sharp increase in the number of degenerative cells in the proximal renal tubules. The exposure to the experimental doses of selenium oxide nanoparticles led to changes in electrocardiogram, respiration and blood pressure parameters. We also observed a tendency to a drop in blood pressure, heart rate and disruption of the processes of myocardial repolarization.

In all the animals exposed to selenium nanoparticles, the number of neutrophils in liver imprints and smears decreased without obvious dose dependence. No adverse effect on the coefficient of genomic DNA fragmentation in nucleated blood cells of rats was shown, and at the highest total dose of 36 mg/kg body weight, a statistically significant decrease in the fragmentation coefficient was observed.

A distinctive feature of exposure to selenium oxide nanoparticles in comparison with previously investigated metal oxide nanoparticles is the ability to have both adverse and positive effects on the organism.

I.A. Sitnikov, D.R. Shaikhova, A.M. Amromina, M.P. Sutunkova,
Yu.V. Ryabova, A.V. Tazhigulova, V.O. Ruzakov

**A DECREASE IN THE GENE EXPRESSION PATTERN OF
NMDA RECEPTOR IN THE RAT HIPPOCAMPUS
FOLLOWING INTRAPERITONEAL ADMINISTRATION OF
COPPER OXIDE NANOPARTICLES**

*Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection
in Industrial Workers, Yekaterinburg, Russian Federation*

Owing to the current global development of nanotechnologies, the study of nanomaterials and health effects of nanoparticles is of special importance within assessment of risks posed by the production and use of such materials. Particles of the nanometer range make up a significant fraction in aerosol contamination of ambient and workplace air in several industries. Nanoparticles are a risk factor for the onset and progression of many neurodegenerative diseases. For example, a copper-induced dysregulation of NMDA receptors may be a reason for neurological disorders, such as Menkes and Alzheimer diseases. Previous studies have shown that NMDA receptors in the hippocampus may be crucial for the development of spatial learning, memory, synaptic plasticity, and neurotoxicity.

Intraperitoneal injections of suspended copper oxide nanoparticles obtained by laser ablation were performed 3 times a week for 6 weeks in outbred white male rats. The control animals were administered the same volume of sterile deionized water. The first group of animals consisted of controls (Control); the second group was exposed to copper nanoparticles in a single dose of 1 mg/kg of body weight (CuO, 0.25 mg/mL); the third group was exposed to copper nanoparticles in a single dose of 2 mg/kg of body weight (CuO, 0.5 mg/mL).

IntactRNA fixation of a part of the rat hippocampus was done to stabilize the RNA in biological samples, followed by isolation of the total RNA using a phenol–chloroform extraction. We performed a quantitative analysis of RNA using a Qubit 4 fluorimeter and Qubit™ RNA BR Assay Kit (100 assays). The RNA samples were treated with a solution of DNase I free of RNase. After that, the reverse transcription using a MMLV-RH kit (Diam) was carried out using Thermal Cycler SimpliAmp™. The expression of the GRIN1, GRIN2a and GRIN2b genes encoding the GluN1, GluN2A and GluN2B proteins, respectively, was defined by real-time PCR with primers, probes and the GAPDN housekeeping gene. The gene expression pattern was assessed by the

mRNA content of the studied gene relative to the amount of mRNA of the GAPDH housekeeping reference gene. The Kruskal–Wallis test was used for statistical data processing for pair-wise comparison of several groups using the Statistica 12 software. We have found an inverse correlation between the gene expression patterns of GRIN1, GRIN2A, and GRIN2B encoding proteins of the NMDA receptor subunits (GluN1, GluN2A, and GluN2B) in the hippocampus and the concentration of copper oxide nanoparticles. An increase in the concentration of copper oxide nanoparticles resulted in a decrease in expression, which presumes a dose–response relationship. Nevertheless, the statistically significant differences in the values of the threshold cycle indicator for all the studied genes were revealed only for the values of the control group (ΔC_t (GRIN1) = 6.301; ΔC_t (GRIN2A) = 7.823; ΔC_t (GRIN2B) = 4.747) and those of CuO 0.5 mg/mL group (ΔC_t (GRIN1) = 0.813; ΔC_t (GRIN2A) = 3.477; ΔC_t (GRIN2B) = 1.37).

Thus, the assessment of the NMDA gene expression pattern can be used as a genetic marker to identify the toxic effect of copper oxide nanoparticles but further studies are still needed, including behavioral tests, to confirm the presence of clinical manifestations of neurodegenerative disorders. Our findings may be potentially helpful in the assessment of occupational exposure to copper nanoparticles.

УДК 615.9:615.099.092:614.71:577:661.682:57.084.1

S.N. Solovyova, M.P. Sutunkova, L.I. Privalova, I.A. Minigalieva,
V.B. Gurvich, I.N. Chernyshov, B.A. Katsnelson

EXPERIMENTAL CHARACTERISTICS OF TOXICITY AND HAZARD OF INDUSTRIAL AEROSOLS CONTAINING A SIGNIFICANT FRACTION OF SILICA NANOPARTICLES

*Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection
in Industrial Workers, Yekaterinburg, Russian Federation*

The main experiment was carried out on female rats aged 3 months, which were exposed to inhalation of amorphous silica nanoparticles in a “nose only” inhalation device four hours a day at concentrations of 2.6 ± 0.6 or 10.6 ± 2.1 mg/m³. Both experimental and control groups consisted of 60 animals. The experiment lasted six months with an intermediate elimination period of three months.

The real industrial aerosol under study contains a significant fraction of amorphous silica nanoparticles and has an insignificant general toxic effect and low fibrogenicity. This is fully consistent with the results of morphological

studies of lung tissue preparations. The presence of a network of thin reticular argyrophilic fibers can be explained by low biopersistence of amorphous SiO₂ in the lungs and other organs due to relatively high solubility of these nanoparticles in biological fluids.

Electron microscopy revealed transnasal penetration of the aerosol particles into the olfactory region of the brain. An increase in DNA fragmentation was observed when testing for structural damage and repair of DNA in the rats' blood and bone marrow cells using the amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis.

In a comparative assessment of the cytotoxic effect following a single intratracheal injection, we established that the biological aggressiveness assessed by the ratio of neutrophilic leukocytes to alveolar macrophages, NL/AM, of the investigated industrial aerosol containing 72 % amorphous silica with an average nanoparticle size of 90 nm was significantly lower than that of a specially synthesized almost 100 % pure amorphous silica with an average size of 43 nm, the biological aggressiveness of which was even higher than that of the standard DQ₁₂ silica particles. Such increased biological activity made it possible to assume that, of all the components of the industrial aerosol, the main reason for its high cytotoxicity was the predominance of nanoparticles.

A sharp increase in the free cell population of the lower airways occurs mainly due to the accumulation of neutrophilic leukocytes in response to the deposition of cytotoxic particles in them. This is a typical reaction of the body, both protective (as a mechanism of pulmonary clearance) and pathological (as a component of inflammation).

When assessing the cytotoxic effect a single intratracheal administration of NPs of industrial aerosol against the background of a 30-day administration of a bioprophylactic complex (BPC), we observed normalization of both cytological and biochemical parameters of the bronchoalveolar lavage.

The obtained experimental data were applied to establishing the air quality standard in populated areas of technical silicon thermal production.

**A.N. Tazhigulova, Yu.V. Ryabova, I.A. Minigalieva, M.P. Sutunkova,
V.B. Gurvich, S.V. Klinova, S.N. Solovyova, A.K. Labzova,
R.F. Minigalieva, L.I. Privalova, B.A. Katsnelson**

**EVALUATION OF RESPONSE OF THE RAT LOWER
AIRWAYS TO INTRATRACHEAL INSTILLATION OF
SELENIUM AND COPPER NANOPARTICLES**

*Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection
in Industrial Workers, Yekaterinburg, Russian Federation*

The development of nanotechnologies and the widespread use of nanomaterials require special attention to their human health effects. In particular, selenium and copper nanoparticles are being increasingly used in many spheres of human activity. Occupational exposure to selenium, copper and their compounds is present in many industries as the fields of application of these metals vary from chemical and glass to metallurgical industries. In this regard, studies of selenium and copper nanoparticles are of great importance both within the framework of assessing the risk posed by their production and use, and because nanoparticles (NP) constitute a significant fraction in aerosol pollution of atmospheric and workplace air in quite a number of industries.

Our objective was to assess the response of the rat lower airways to intratracheal instillation of selenium and copper nanoparticles.

Nanoparticles were obtained by laser ablation at the Ural Federal University. Following combined intratracheal instillation of stable suspensions of nanoparticles of selenium and copper oxides, we observed a statistically significant increase in the total number of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cells in the group of exposure to SeO NPs + CuO NPs. This increase was mainly attributed to the rise in the number of neutrophilic leukocytes (NL). The numerical ratio of NL to alveolar macrophages (AM) increased simultaneously. Parameters of the rise in the number of neutrophilic leukocytes and the NL to AM ratio serve as a criterion for the quantitative assessment of the cytotoxic effect of instilled particles. It has been already proven that the mobilization of AM and, to an even greater extent, NL is regulated by the mass of products of macrophage destruction induced by phagocytosed cytotoxic particles. Following intratracheal instillation of a combination of selenium and copper nanoparticles, a statistically significant increase in the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), amylase, gamma-glutamyl transpeptidase, and lactate dehydrogenase was observed in the BALF supernatant, which is typical of the effect of cytotoxic particles.

Our findings indicate a toxic effect of the combined exposure to nanoparticles of selenium and copper oxides in the lung, thus justifying the necessity of appropriate preventive measures.

УДК 615.9

L.M. Fatkhutdinova,¹ G.A. Timerbulatova^{1,2}

**METHODOLOGICAL FOUNDATIONS OF THE RATIONALE
FOR SAFE LEVELS OF EXPOSURE TO ENGINEERED
NANOMATERIALS (ON THE EXAMPLE OF THE
CORPORATE STANDARD)**

*¹Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan,
Russian Federation*

*²Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan,
Kazan, Russian Federation*

Owing to their unique properties, carbon nanotubes (CNTs) can be used in many areas, including construction, production of composite materials, nanoelectronics, etc. The huge demand from consumers and the lack of differentiation between products from different manufacturers opens the door for new manufacturers. An important stage in the introduction of products to the domestic and global markets is the establishment of safe levels of exposure to CNTs.

At present, there are no national standards for CNTs in the workplace air in Russia and abroad but there exist reference values proposed by some research institutions. The US National Institute for Occupational Safety and Health currently recommends a reference level of $1.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Within the framework of the European ENRHES project “Engineered Nanoparticles – Review of Health and Environment” Safety, it was proposed to use $0.67 \mu\text{g}/\text{m}^3$ as a reference concentration for CNTs.

In 2010, the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor) of the Russian Federation established standards for three nanomaterials (GN 1.2.2633-10, *Hygienic standards for the content of priority nanomaterials in environmental objects*), developed on basis of the maximum permissible level of $0.01 \text{ fiber}/\text{cm}^3$, calculated as 1/10 of the MPL for asbestos fibers proposed in 2007 by the British Standards Institution. Yet, the document was cancelled in 2013.

A number of CNT manufacturers (for example, the Belgian manufacturer of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) Nanocyl SA) use their corporate regulations.

The corporate standard substantiated in experiments *in vitro* (on cell cultures) and *in vivo* (using laboratory animals).

When planning *in vitro* experiments, it is important to choose a cell line that best matches the proposed route of exposure to the target organ when exposed to CNTs. To simulate the inhalation route of exposure to CNTs, it is recommended to use primarily cell lines representing the human respiratory tract, for example, BEAS-2B — human bronchial epithelial cells; HLF — human lung fibroblasts; HBepC — human bronchial epithelial cells, etc. *In vivo* studies can be carried out on both linear (Wistar, Sprague-Dawley rats, etc.; mice of CBA, C57BL/6, etc.) and nonlinear healthy adult animals. The most reasonable method for assessing CNT exposure is a 90-day subchronic inhalation experiment that meets the requirements of OECD 413: 2017. Evaluation of the inhalation exposure to CNTs can also be carried out with a single intratracheal instillation for rats, or pharyngeal aspiration for mice, followed by a 28, 90 and 180-day observation after exposure cessation.

CNT doses for *in vitro* and *in vivo* experiments should be selected based on the results of estimating the amount and mass of particles settled in the respiratory tract of a person under various exposure scenarios. Computer simulation of deposition of aerosol particles in different areas of the human respiratory tract can be carried out using the MPPD (Multiple-Path Particle Dosimetry) software.

An important task in assessing the effect of CNTs is to obtain homogeneous dispersions in which CNTs become bioavailable. According to our previous findings, the use of sterile culture media (using ultrasonic treatment) seems to be the best choice for the preparation of CNT dispersions for experiments on cell cultures while 1 % bovine serum albumin is optimal for animal experiments.

During *in vitro* and *in vivo* experiments, the no effect and the lowest effect exposure levels were determined for cell cultures and the respiratory tract of animals. The data obtained is used to substantiate the corporate standard for CNT.

The reported study was funded by the Russian Foundation for Basic Research, Project No. 19-315-90046.

V.Ya. Shur,¹ E.V. Shishkina,¹ V.I. Pryakhina,¹ B.I. Lisyikh,¹
D.K. Kuznetsov,¹ M.P. Sutunkova,² B.A. Katsnelson²

SYNTHESIS OF NANOPARTICLES FOR NANOTOXICOLOGICAL RESEARCH BY LASER ABLATION IN LIQUID

*¹Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University,
Yekaterinburg, Russian Federation*

*²Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection
in Industrial Workers, Yekaterinburg, Russian Federation*

The research of nanoparticle toxicity (nanotoxicology) needs production of the stable high concentrated water suspensions of pure nanoparticles (NPs) with required composition, size and shape. Laser ablation in liquid provides a unique opportunity to prepare stable water suspensions of pure noble metals and metal oxides with required parameters of NPs. Prepared suspensions of Au, Ag, CuO, NiO, ZnO, Fe₂O₃, Mn₃O₄, SiO₂, Al₂O₃, TiO₂, PbO, CdO, PbS, CdS, and SeO NPs in concentration up to 0.5 g/L and sufficient stability were used to study the impact of the NPs on biological tissues and cells.

The pulsed ytterbium fiber laser (1064 nm, 100 ns, 21 kHz) was used for ablation of a pure metal target in deionized water and subsequent fragmentation. The NPs synthesis was performed in several stages: (1) treatment of the target surface by focused laser beam scanning, (2) laser ablation of the target, (3) additional laser fragmentation of the suspension without the target, (4) heating for NPs reshaping by growth and aggregation, and (5) drying of the suspension to increase the metal concentration.

The technologies optimized for a given material enabled production of suspensions of spherical NPs with the average size ranging from 10 to 60 nm and a month-long stability. The size distribution function was measured by particle size analyser Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) and by statistical analysis of the images obtained by scanning electron microscope Auriga CrossBeam (Carl Zeiss, Germany). The NP composition was determined by confocal Raman microscope Alpha 300 AR (WiTec, Germany). The structure and shape of individual NPs was extracted from the electron diffraction patterns obtained by transmission electron microscope JEM-2100 (JEOL, Japan).

The total content of metals in the tissues of liver, kidneys, spleen, and brain of the rats following a long-term exposure to NPs was established using atomic emission spectrometer with inductively coupled plasma iCAP 6500 Duo (Thermo Scientific, USA). The freeze-dried homogenized tissues were subjected

to acid ignition using a MARS 5 microwave accelerated reaction system. The content of NPs of paramagnetic metals was determined by electron paramagnetic resonance (EPR) using an EMX Plus EPR spectrometer (Bruker, Germany).

The effect of NPs on alveolar macrophages was studied *in vivo* by atomic force microscopy (AFM) using a probe nanolaboratory NTEGRA-Therma (NT-MDT, Russia). We found that phagocytosis of NPs led to nanoscale changes in the cells surface morphology. The sizes of surface nano-depth pits revealed by AFM in the cells of rats exposed to NPs were comparable to the NPs sizes. The positions of NPs in the samples of rat tissue and induced destructions were revealed by a Merlin scanning transmission electron microscope (Carl Zeiss, Germany).

All experimental methods were used for nanotoxicological research conducted in collaboration with the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers based on the equipment of the Ural Center of Shared Use “Modern Nanotechnology”, School of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University.

РЕЗОЛЮЦИЯ

Второй всероссийской научно-практической очно-заочной конференции с международным участием «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути её снижения»

Вторая всероссийская научно-практическая очно-заочная конференция с международным участием «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути её снижения», приобщенная к Году науки и технологий в Российской Федерации, проведенная 20-21 октября 2021 года в г. Екатеринбурге, посвящена обсуждению вопросов безопасности наноматериалов, которые чрезвычайно важны для России с точки зрения гигиенических проблем.

С одной стороны, развитие нанотехнологий, которые находят все более широкое применение в различных областях, включая электронику, энергетику, химическую и фармацевтическую промышленность, агротехнику, медицину, производство пищевых и косметических продуктов и многие другие, с другой стороны, присутствие наноразмерных («ультратонких») частиц в составе промышленных аэрозолей и взвешенных веществ, загрязняющих атмосферный воздух населенных мест, оказывают огромное влияние на развитие экономики, а также состояния здоровья человека и его жизнь.

В первую очередь на конференции рассмотрены вопросы безопасности влияния наночастиц на организм. Опережающая оценка токсичности должна проходить на экспериментальной базе в научно-исследовательском учреждении, начиная с изучения дисперсии частиц и химического состава выбросов промышленного производства, заканчивая исследованием влияния этих частиц на организм.

Обсуждены общие закономерности токсикокинетики и токсикодинамики наночастиц, анализ зависимости механизмов токсичности наночастиц от их размеров и химического состава в тестах «in vitro» и «in vivo», оценка эффектов вредного действия комбинации наночастиц и их сочетания с другими вредными факторами производственной среды, принципы обоснования безопасных уровней

воздействия наночастиц на организм, развитие подходов к повышению резистентности организма к вредному действию наночастиц, управление риском для здоровья лиц, контактирующих с наночастицами в процессе производства и использования наноматериалов.

Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием прошла с участием более 300 специалистов органов и организаций Роспотребнадзора, университетов, научно-исследовательских институтов, предприятий и других организаций из 33 регионов Российской Федерации (Алтайский, Красноярский, Пермский, Приморский края; Республики Башкортостан, Карелия, Татарстан; Волгоградская, Иркутская, Кемеровская, Ленинградская, Московская, Новгородская, Новосибирская, Нижегородская, Оренбургская, Рязанская, Саратовская, Свердловская, Тамбовская, Тюменская, Ульяновская, Челябинская области) представителей исследовательских центров и университетов Австрии, Великобритании, Греции, Индии, Португалии, Румынии, Эстонии, Киргизской Республики, а также Республик Казахстана и Беларусь.

Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на конференции представляли ученые и специалисты научно-исследовательских организаций Роспотребнадзора (ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий», ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана», ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профессиональной патологии»), Управлений Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центры гигиены и эпидемиологии».

Научные учреждения были представлены также НИИ Российской Академии наук (ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН», ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН»), Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии ФМБА России»), Министерства науки и высшего образования (ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических

исследований)), Национальным исследовательским центром «Курчатовский институт», российскими университетами (ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Уральский центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина).

Зарубежные гости конференции представили Медицинский исследовательский центр Медицинского университета г. Грац, Австрия; Манчестерский университет, г. Манчестер, Великобритания; Университет Крита, г. Ираклион, Греция; Университет медицины и фармации Крайовы, г. Крайова, Румыния; Национальный институт химической физики и биофизики, г. Таллин, Эстония; Бхаратиарский университет, г. Коимбатур, Индия; Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь; ГОУ ВПО «Кыргызско-Российский Славянский университет имени первого Президента Российской Федерации Б.Н. Ельцина», г. Бишкек, Киргизская Республика; НАО «Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева», г. Нур-Султан, Республика Казахстан.

К началу конференции издан сборник материалов в электронном виде, в который вошли 38 тезисов на русском и английском языках. В декабре 2021 года выйдет шестой номер журнала «Токсикологический вестник», в котором будут опубликованы 7 статей по материалам докладов, представленных на конференции. На заседаниях заслушано 32 доклада.

Исходя из представленных докладов и дискуссий, участники конференции отмечают:

- важность вопроса о разработке метода контроля и установления предельно допустимых концентраций содержания частиц нанодиапазона в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе;
- связь между некоторыми свойствами наночастиц (такими как размер, форма, структура поверхности, степень агрегации, растворимость), в том числе металлсодержащих, 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, нужно учитывать их более высокую токсичность, особенно генотоксичность, по сравнению с их микрометровыми аналогами;

- необходимость расширения гигиенических исследований, посвященных оценке экспозиций к наноматериалам;

- необходимость математического моделирования для понимания процессов токсикокинетики веществ в наноразмерном диапазоне, накопления его в органах и тканях, выведения из организма и оценки его токсического действия;

- совершенствование системы мер, направленных на повышение устойчивости групп риска к воздействию металлосодержащих наноматериалов, охватывающих как рабочих, которые подвергаются их воздействию в производственных условиях, так и население территорий, находящихся под воздействием таких производств.

Участники конференции постановили считать приоритетными:

- развивать и углублять научно-исследовательские работы, направленные на изучение безопасности и токсичности наночастиц;

- расширение исследований по разработке альтернативных моделей и ускоренных методов оценки токсичности наноматериалов, в том числе математического моделирования, и внедрению их в практику для работы в лабораториях Роспотребнадзора;

- разработку новых эффективных средств биологической профилактики вредного действия наночастиц, в том числе при комбинированном и сочетанном их действии;

- развитие методической базы для оценки токсического действия, идентификации, измерения количественного и качественного состава наночастиц;

- создание на базе институтов Роспотребнадзора комплексных многоотраслевых многопрофильных исследовательских коллективов по изучению влияния наночастиц на различные системы организма с применением ускоренных методов токсикометрии и математического анализа;

- применение ускоренных методов токсикометрии для разработки гигиенических нормативов для наночастиц;
- выделение группы экспертов по разработке гигиенических нормативов для наночастиц в составе Комиссии по Государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Роспотребнадзора;
- регулярное проведение совещаний по вопросам идеологии, методологии нормирования наноматериалов и принципов измерения для контроля установленных нормативов;
- необходимость развития научно-методических подходов и расширения гигиенических исследований, посвященных оценке экспозиций к наноматериалам;
- расширение опыта комплексирования токсикологов с физиками, математиками, биофизиками.



**Поздравление руководителя Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека**

А.Ю. Поповой

Кацнельсона Бориса Александровича

20 октября 2021 г.

20 октября 2021 года исполнилось 95 лет со дня рождения заслуженного деятеля науки Российской Федерации, действительного члена Нью-Йоркской Академии наук, доктора медицинских наук, профессора, замечательного человека, выдающегося ученого Бориса Александровича Кацнельсона.

Трудовая биография Бориса Александровича началась во время войны в г. Новосибирске мотористом летно-испытательной станции авиазавода. В 1949 г. он с отличием окончил Челябинский государственный медицинский институт по специальности «лечебное дело» и в том же году прошел специализацию по промышленной гигиене, а затем с 1949 по 1954 г работал по этой специальности в инспекции промышленной гигиены в санэпидстанции г. Челябинска. В 1954-1957 гг. Б.А. Кацнельсон обучался в аспирантуре и защитил кандидатскую диссертацию, посвящённую вопросам гигиены труда при загрузке доменных печей и экспериментальной оценке действия на организм образующихся при этом процессе пылевых частиц.

С 1959 года по настоящее время Борис Александрович работает в Федеральном бюджетном учреждении науки «Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора. В 1968 году Борис Александрович защитил докторскую диссертацию по проблеме комбинированного действия вредных факторов в этиологии силикоза; в 1970 г. ему присвоено звание профессора, в 2002 г – заслуженного деятеля науки РФ; с 1995 г - действительный член Нью-Йоркской Академии наук.

Весь трудовой путь Бориса Александровича является образцом высокопрофессионального труда талантливого Ученого, Учителя и Наставника.

Труды Б.А. Кацнельсона и его учеников внесли весомый вклад в изучение этиологии и патогенеза пневмокониозов, а также

токсикокинетики и токсикодинамики интоксикаций организма металлами. Им было создано и развивается новое направление гигиенической науки, состоящее в повышении устойчивости организма к этим заболеваниям и названное «биологической профилактикой». Под его руководством разработаны и апробированы около 20 биопрофилактических комплексов, которые внедрены в широкую практику в городах Свердловской и Оренбургской областей, Красноярского края, Республики Северная Осетия-Алания.

Под руководством профессора Б.А. Кацнельсона разрабатываются ПДК и ОБУВ вредных веществ в воздухе рабочей зоны и методология их обоснования, проводятся исследования механизмов комбинированной токсичности, математическое моделирование токсикокинетических процессов, теоретический анализ и экспериментальное развитие проблемы комбинированной токсичности, экологическо-эпидемиологические исследования и развитие методологии оценки риска, экономический анализ эффективности профилактических мероприятий. Одним из первых в России профессор Б.А. Кацнельсон и его ученики начали исследования в области токсикологии наноматериалов, результаты которых широко публикуются в высокорейтинговых российских и зарубежных журналах, докладываются на многих международных конференциях (США, Канада, Германия, Англия, Франция, Чехия, ЮАР и др.) и пользуются высоким авторитетом.

Труды Б.А. Кацнельсона характеризуются оригинальностью, глубиной анализа и серьёзностью теоретических обобщений. По перечисленным выше направлениям его учениками было защищено 25 кандидатских и 9 докторских диссертаций.

По результатам исследований Б.А. Кацнельсона и его школы практика санитарного надзора только за последние 5 лет получила 8 методических документов и 6 гигиенических нормативов, в том числе и по наноматериалам.

На протяжении длительного времени он является экспертом Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Роспотребнадзоре и Комиссии по канцерогенным факторам при Минздраве РФ, членом правления Всероссийской общественной организации токсикологов и редколлегии журнала «Токсикологический вестник».

Эрудиция Б.А. Кацнельсона в разных областях гигиенической науки и практики при его способности к синтезу различных научных направлений и к генерации оригинальных идей и, вместе с тем, высокая порядочность, доброжелательность, открытость, готовность прийти на помощь советом и делом вызывает искреннее уважение коллег в России и за рубежом.

Б.А. Кацнельсон – автор 5 монографий, 7 патентов и свыше 440 статей по различным вопросам гигиены труда, токсикологии, экологической эпидемиологии, многие из которых публиковались в международных журналах.

За свой многолетний плодотворный труд Борис Александрович награжден государственными наградами: медалями «За трудовую доблесть», «За трудовое отличие», медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, Благодарностью Президента Российской Федерации, а также ведомственными и региональными наградами: значками «Отличник здравоохранения», «Отличник санэпидслужбы», нагрудным знаком «Почетный работник Роспотребнадзора», орденом «За заслуги в развитии медицины и здравоохранения», памятной медалью «90 лет Госсанэпидслужбе России», большим числом Почетных грамот и благодарностей, в том числе от Полпреда Президента в Уральском федеральном округе, Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Законодательного собрания Свердловской области и др.

В этот замечательный юбилей сердечно поздравляю Бориса Александровича, выражаем глубокое уважение и от всей души желаем доброго здоровья, дальнейших творческих успехов, неиссякаемой энергии и большого человеческого счастья!

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный Государственный
санитарный врач Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор

А.Ю. Попова