

cinogens. *Professional'nyy rak. Issue 2 of the Research Digest*. M., NII gigiyeny im. F.F. Erismana. 1981: 5–10 (in Russian).

12. Dil'man V.M. *Endocrinological oncology*. L.: Meditsina; 1983 (in Russian).

13. Ashrafyan L.A., Kiselyov V.I. *Reproductive cancers: etiology and pathogenesis*. M. Dimitreid Grafik Grupp; 2008 (in Russian).

Поступила 12.10.2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Базарова Екатерина Ливерьевна (Ekaterina L. Bazarova),
вр. по гиг. труда МУ МСЧ Тирус, асс. каф. гигиены и экологии ФБОУ ВО «УГМУ» Минздрава России, канд. мед. наук.
E-mail: bazarova@vsmpo.ru.

Рослый Олег Федорович (Oleg F. Rosly),

д-р мед. наук, по 09.2017 г. рук. отд. мед. труда ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

Федорук Анна Алексеевна (Anna A. Fedoruk),

рук. отд. мед. труда ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, канд. мед. наук. E-mail: annaf@ymrc.ru.

Рослая Наталья Алексеевна (Natalya A. Roslaya),

доц. каф. обществ. здоровья и здравоохранения ФБОУ ВО УГМУ Минздрава России, гл. внештатный профпатолог Уральского ФО, д-р мед. наук. E-mail: naroslava@gmail.com.

Ошеров Илья Семенович (Ilya S. Oshero),

Гл. вр. МУ МСЧ Тирус, засл. вр. РФ. E-mail: osherov@vsmpo-avisma.ru.

УДК 615.9

Сутункова М.П.¹, Макеев О.Г.², Привалова Л.И.¹, Минигалиева И.А.¹, Гурвич В.Б.¹, Соловьева С.Н.¹, Клинова С.В.¹, Рузаков В.О.¹, Коротков А.В.², Шуман Е.А.², Кацнельсон Б.А.¹

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ЭЛЕМЕНТНЫХ ИЛИ ЭЛЕМЕНТНООКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ И ЕГО ОСЛАБЛЕНИЕ КОМПЛЕКСОМ БИОПРОТЕКТОРОВ

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, ул. Попова, 30, Екатеринбург, Россия, 620014;

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», ул. Репина, 3, Екатеринбург, Россия, 620028

В токсикологических экспериментах оценивался коэффициент фрагментации (K_{fr}) ДНК в ПАДФ-тесте (полиморфизм длин амплифицированных фрагментов ДНК) после воздействия наночастиц (НЧ) серебра, золота, оксидов меди, железа, алюминия, цинка, свинца, никеля, кремния при внутрибрюшинном или ингаляционном путях поступления. Внутрибрюшинное введение осуществлялось 3 раза в неделю в течение 6 недель, в эмпирически подобранных сублетальных дозировках, при действии которых наблюдается умеренное развитие интоксикации. Ингаляционные экспозиции проводились по 4 часа в день, 5 раз в неделю в течение 3, 6 или 10 месяцев.

Установлено, что при действии всех перечисленных НЧ происходит статистически значимое усиление фрагментации ядерной ДНК. На фоне воздействия на организм комплекса биопротекторов различной направленности действия генотоксичность НЧ серебра, оксида меди и оксида никеля оказалась существенно ослабленной.

Ключевые слова: наночастицы; металлы; генотоксичность

Для цитирования: Сутункова М.П., Макеев О.Г., Привалова Л.И., Минигалиева И.А., Гурвич В.Б., Соловьева С.Н., Клинова С.В., Рузаков В.О., Коротков А.В., Шуман Е.А., Кацнельсон Б.А. Генотоксический эффект воздействия некоторых элементных или элементнооксидных наночастиц и его ослабление комплексом биопротекторов. *Мед. труда и пром. экол.* 2018. 11: 10–16. <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2018-11-10-16>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Marina P. Sutunkova¹, Oleg G. Makeyev², Larisa I. Privalova¹, Il'zira A. Minigaliyeva¹, Vladimir B. Gurvich¹, Svetlana N. Solov'yova¹, Svetlana V. Klinova¹, Vadim O. Ruzakov¹, Artyom V. Korotkov², Evgeniy A. Shuman², Boris A. Katsnelson¹
GENOTOXIC EFFECT OF SOME ELEMENTAL OR ELEMENT OXIDE NANOPARTICLES AND ITS DIMINUTION BY BIOPROTECTORS COMBINATION

¹Ekatereburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, 30, Popova Str., Ekaterinburg, Russia, 620014;

²Ural State Medical University, 3, Repina Str., Ekaterinburg, Russia, 620028

Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD) analysis was a part of toxicological studies to determine DNA fragmentation coefficient (K_{fr}) after the exposure to nanoparticles of silver, gold, copper oxides, iron, aluminum, zinc, lead, nickel, silicon administered intraperitoneally or by inhalation.

Intraperitoneal administration occurred 3 times a week for 6 weeks and covered empirically selected sublethal doses to provide moderate intoxication. Inhalational expositions continued 4 hours a day 5 times a week for 3, 6 or 10 months.

The statistically significant increase in nuclear DNA fragmentation was observed in all cases of exposure to nanoparticles. If subjected to a combination of bioprotectors varying in the action mode, genotoxicity of the silver, copper oxide and nickel oxide nanoparticles was significantly weaker.

Key words: nanoparticles; metals; genotoxicity

For citation: Sutunkova M.P., Makeyev O.G., Privalova L.I., Minigaliyeva I.A., Gurvich V.B., Solov'yova S.N., Klinova S.V., Ruzakov V.O., Korotkov A.V., Shuman Ye.A., Katsnelson B.A. Genotoxic effect of some elemental or element oxide nanoparticles and its diminution by bioprotectors combination. *Med. truda i prom. ekol.* 2018. 11: 10–16. <http://dx.doi.org/10.31089/1026-9428-2018-11-10-16>

Sponsorship: The study had no sponsorship.

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

Введение. Наночастицы металлов и их оксидов представляют особый интерес с позиций оценки и управления рисками для здоровья в связи с тем, что эта проблема не ограничивается производством и применением специальных наноматериалов, но имеет более широкое значение. В составе аэрозолей конденсации, генерируемых при электродуговой сварке и металлургических процессах, обычно имеется значительная фракция субмикронных металлосодержащих частиц, включающая наноразмерную субфракцию.

Особого рассмотрения заслуживают данные о генотоксичности элементарных НЧ — свойство, неблагоприятное для организма и само по себе, и как предиктор вероятной канцерогенности.

Теоретическими предпосылками к прогнозированию этого свойства уже на первых этапах развития нанотоксикологии были:

- ожидаемая способность НЧ к проникновению не только внутрь самых различных клеток, но и далее — внутрь клеточного ядра;

- их огромная удельная поверхность, обеспечивающая высокую вероятность взаимодействия активных центров данной поверхности с био-макромолекулами (в частности, с ДНК);

- повышенная физическая и химическая активность данных центров, связанная с изменениями молекулярной структуры поверхности при высоком радиусе ее кривизны, а, следовательно, не только усиление указанного взаимодействия, но и особая способность к запуску свободнорадикальных процессов (образование активных кислородных радикалов, повреждающих ДНК).

Опубликовано большое число работ, в которых различными тестами и на различных клеточных объектах демонстрируется генотоксическое действие НЧ, но преимущественно «*ин витро*» [1–12]. Исследования «*ин vivo*» проводились чаще всего на основе кратковременных тестов и нередко давали отрицательный результат [13–15]. Между тем, исследование генотоксичности на целостном организме «*ин vivo*» особо актуально для профилактической токсикологии, поскольку именно оно может послужить основанием для практически важных выводов в сфере оценки рисков, гигиенического нормирования и биологической профилактики.

Цель исследования — оценка генотоксического эффекта воздействия НЧ серебра, золота, оксидов меди, железа, алюминия, цинка, свинца, никеля, кремния при внутрибрюшинном или ингаляционном путях поступления с помощью ПДАФ-теста.

Материалы и методы. Все эксперименты были проведены на аутбредных белых крысах из собственной колонии при начальной массе тела 150–220 г. в возрасте 3–4 месяцев. Каждая экспонированная или контрольная группа включала не менее 12 особей. Крысы содержались в специальном помещении, отделенном от остальных помещений вивария, и получали чистую бутилированную воду и стандартный сбалансированный корм, хранимый отдельно от общих запасов. Животные содержались в условиях, соответствующих СП 2.2.1.3218–14 «Санитарно-эпиде-

миологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

Эксперименты планировались и осуществлялись в соответствии с «International guiding principles for biomedical research involving animals developed by the Council for International Organizations of Medical Sciences» и с одобрения Комиссии по этике Центра.

Оценка генотоксического действия проводилась после воздействия НЧ серебра, золота, оксидов меди, никеля, марганца, цинка, титана, кремния, алюминия при внутрибрюшинном введении, НЧ оксидов железа, никеля, кремния при ингаляционном пути поступления.

Специально для субхронических экспериментов были приготовлены стабильные суспензии металлических НЧ Au (50 ± 5 нм), Ag (49 ± 10 нм), NiO (17 ± 8 нм), Mn_3O_4 (18 ± 5 нм), CuO (20 ± 10 , 25 ± 10 , 340 ± 168 нм), PbO (47 ± 16 нм), ZnO (30 ± 11 , 83 ± 20 нм), TiO_2 (27 ± 7 нм), SiO_2 (43 ± 11 нм), Al_2O_3 (21 ± 6 нм), полученные лазерной абляцией тонких листовых мишеней из соответствующих металлов 99,99% чистоты под слоем стерильной деионизированной воды в Центре коллективного пользования «Современные нанотехнологии». Характеристика распределения размеров НЧ давалась с помощью их прямого измерения сканирующей электронной микроскопией и метода динамического рассеяния света. Стабильность суспензий характеризовалась величиной дзета-потенциала, измеренного с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK), и была высокой, что позволило повысить концентрацию суспензий путем частичного испарения воды при 50 °C. Этим способом удалось достичь концентрации 0,5 мг/мл без изменения размера и химической идентичности практически всех исследуемых НЧ, однако для оксида алюминия предельная концентрация, которая обеспечивала бы стабильность, являлась 0,25 мг/мл.

Каждый тип НЧ вводился внутрибрюшинно экспериментальным животным 3 раза в неделю в течение 6 недель. НЧ серебра, золота и меди в дозе 10 мг/кг, оксидов никеля, марганца, свинца, цинка, титана, кремния 2,5 мг/кг, оксида алюминия 1,25 мг/кг.

Все хронические ингаляционные экспозиции проводились по 4 часа в день, 5 раз в неделю в ингаляционной системе типа «только нос» CH Technologies, USA с автоматической регулировкой всех параметров экспозиции. Аналогичная установка использовалась для квази-экспозиции контрольных крыс.

Витающие НЧ Fe_2O_3 (14 ± 4 нм) или NiO (23 ± 5 нм) генерировались с помощью электрического искрения между соответствующими исследуемыми металлическими стержнями 99,99% чистоты в атмосфере азота, разбавлялись увлажненным воздухом и подавались его потоком в ингаляционную установку с пенами для 60 крыс. Средние концентрации ($\pm s_x$) составляли Fe_2O_3 $1,00 \pm 0,12$ мг/м³, NiO $0,2 \pm 0,01$ мг/м³; экспозиции проводили в течение 10 месяцев с промежуточными сроками исследования 3 и 6 месяцев. Химическая идентичность НЧ, отобранных на поликарбонатные фильтры, устанавливалась с помощью Рамановской спектроскопии.

Для оценки токсического действия аэрозоля с преобладанием НЧ аморфного SiO_2 (НЧ SiO_2) в пылеподатчик этой же системы типа «только нос» засыпался порошок, полученный при просеивании через сито <2 мкм пыли, собранной в горизонтальном участке газохода от зонта над руднотермической электропечью с открытым колошником при выплавке элементного («металлического») кремния (Si). Сканирующая электронная микроскопия этого материала выявила численное преобладание частиц правильной сферической формы и средним диаметром 90 ± 30 нм. Анализ химического состава смешанного аэрозоля показал наличие 78% свободного SiO_2 , в том числе 72% аморфного и только 6% кристаллического. Животные подвергались ингаляционному воздействию НЧ SiO_2 на протяжении 3 и 6 месяцев в двух концентрациях: ($\pm S_x$) $2,6 \pm 0,6$ или $10,6 \pm 2,1$ мг/м³.

Для оценки противогенотоксического действия биопротекторов в сериях с воздействием серебра, оксида меди при внутрибрюшинном введении и оксида никеля — при ингаляционном введении дополнительная группа животных, которая параллельно была проведена через соответствующий эксперимент и подверглась аналогичному воздействию НЧ на фоне перорального получения биопрофилактического комплекса (БПК). Составы БПК в разных экспериментах имели много общего, различаясь в некоторых существенных деталях соответственно специфическим токсикодинамическим и токсикокинетическим особенностям действия конкретных металлов. Они включали в себя яблочный пектин, глютамат натрия, глицин, N-ацеллцистеин, витаминно-микроэлементные добавки (витамины А, Е и С, селен, йод), а также препарат ры-

бьего жира с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот класса омега-3. Отдельная группа крыс в каждом эксперименте получала соответствующий БПК, но без воздействия НЧ.

Генотоксичность изучаемых НЧ оценивалась после завершения экспозиционного периода в ПДАФ-тесте (полиморфизм длин амплифицированных фрагментов ДНК) с помощью $K_{\text{фр}}$ — отношение суммарной радиоактивности всех фракций «хвоста» к радиоактивности «ядра».

Оценка статистической значимости различий между групповыми средними показателями, характеризующими каждый из вышеописанных вариантов воздействия, проводилась по критерию « t » Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Судя по результатам, приведенным в табл. 1, как НЧ Au, так и НЧ Ag обладают выраженной генотоксичностью, но при этом генотоксичность наносеребра заметно выше. $K_{\text{фр}}$ статистически значимо повышенный по сравнению с его значением в контрольной группе, при действии НЧ Au получен только в костном мозге и почке, а повышенный, но статистически не значимо — также в клетках крови и в селезенке.

С теоретических позиций важно, что при сопоставимых размерах и условиях воздействия НЧ Ag оказались по генотоксичности для всех тканей и по цитотоксичности — для легочных фагоцитирующих клеток более биоактивными, чем НЧ Au [16].

В следующем эксперименте был оценен генотоксический эффект медьсодержащих НЧ и микрочастиц. Судя по количественной оценке фрагментации геномной ДНК клеток разных органов (табл. 2), оба типа изученных медьсодержащих частиц обладают генотоксическим действием «*in vivo*». При этом различия между НЧ и микрочастицами

Таблица 1

Коэффициенты фрагментации геномной ДНК крыс после повторных внутрибрюшинных инъекций суспензий частиц серебра и золота во вводимой дозе 10 мг/кг массы тела 3 раза в неделю в течение 6 недель, ($X \pm S_x$)
Rats' DNA fragmentation coefficients after repeated intraperitoneal injection of suspended particles of silver and gold in the dose injected 10 mg/kg of body weight 3 times per week over 6 weeks, ($X \pm S_x$)

Введено	Ткани					
	Печень	Костный мозг	Селезенка	Почка	Ядродержащие клетки периферической крови	Скелетные мышцы
Вода (контроль)	0,399 $\pm$ 0,001	0,3 $\pm$ 0,003	0,379 $\pm$ 0,002	0,385 $\pm$ 0,003	0,383 $\pm$ 0,001	0,352 $\pm$ 0,002
НЧ Au	0,392 $\pm$ 0,010*	0,412 $\pm$ 0,014*	0,397 $\pm$ 0,008*	0,422 $\pm$ 0,009*	0,403 $\pm$ 0,018	0,340 $\pm$ 0,010
НЧ Ag	0,461 $\pm$ 0,002*	0,455 $\pm$ 0,032*	0,462 $\pm$ 0,001*	0,42 $\pm$ 0,008*	0,413 $\pm$ 0,012*	0,356 $\pm$ 0,009

Примечания: * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от контрольной группы; + — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от группы, получавшей НЧ Ag.

Таблица 2

Коэффициенты фрагментации геномной ДНК крыс, подвергшихся субхронической затравке медьсодержащими частицами во вводимой дозе 10 мг/кг массы тела 3 раза в неделю в течение 6 недель, ($X \pm S_x$)
Fragmentation coefficients of DNA from rats subjected to subchronic poisoning with copper-containing particles in injected dose of 10 mg/kg of body weight 3 times per week over 6 weeks, ($X \pm S_x$)

Орган	НЧ	Микрочастицы	Вода (контроль)
Печень	0,426 $\pm$ 0,0020*	0,421 $\pm$ 0,0030*	0,396 $\pm$ 0,0020
Почки	0,382 $\pm$ 0,0015*	0,401 $\pm$ 0,0016*	0,383 $\pm$ 0,0025
Селезенка	0,460 $\pm$ 0,0020**	0,391 $\pm$ 0,0023*	0,369 $\pm$ 0,0016
Головной мозг	0,355 $\pm$ 0,0020*	0,347 $\pm$ 0,0020*	0,354 $\pm$ 0,0028
Костный мозг	0,355 $\pm$ 0,0017**	0,399 $\pm$ 0,0017*	0,391 $\pm$ 0,0015

Примечания: * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от контрольной группы; + — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от группы микрочастиц.

по влиянию на $K_{\text{фр}}$ ДНК невелики и неоднозначны: если в селезенке оно более выражено при действии НЧ, то в почках и в костном мозге — при действии микрочастиц, а в печени примерно одинаково.

То, что увеличение $K_{\text{фр}}$ ядерной (геномной) ДНК ни при действии НЧ, ни при действии микрочастиц не было отмечено в клетках головного мозга, вероятнее всего объясняется отсутствием митотической активности у нейронов.

В дальнейшем для уменьшения трудозатрат и расходов на проведение исследований было решено ограничиться ПДАФ-тестированием одного — двух родов клеток целостного организма в связи с тем, что степень повышения показателя $K_{\text{фр}}$ может отличаться в органах (зависа, по-видимому, от интенсивности клеточной пролиферации и от выраженности токсического повреждения клеток). Однако сравнительная генотоксичность НЧ, оцениваемая для разных органов, как правило, однозначна.

При оценке НЧ Mn_3O_4 и НЧ NiO определялся $K_{\text{фр}}$ в ядросодержащих клетках циркулирующей крови. Как видно из табл. 3, оба вида НЧ обладают генотоксичностью.

В следующем эксперименте установлено, что НЧ CuO , НЧ PbO и НЧ ZnO , судя по количественной оценке фрагментации геномной ДНК клеток крови, также обладают генотоксическим действием «*in vivo*» даже при той субхронической дозировке, которая вызвала мало выраженных проявлений системной токсичности [17].

Несколько более высокой, хотя и не статистически значимо, в сравнении с двумя другими экспонированными группами, была фрагментация геномной ДНК при введении НЧ оксида свинца.

Наконец, в еще одном случае использования аналогичной экспериментальной модели для сравнительной оценки субхронической интоксикации НЧ Al_2O_3 , НЧ TiO_2 и НЧ SiO_2 [18] все три вида НЧ дали статистически значимый генотоксический эффект. Сравнение между собой силы этого эффекта разных НЧ в этом случае требует пояснения. В связи с технической невозможностью получить стабильную суспензию Al_2O_3 в обычной для исследований концентрации 0,5 мг/мл этот вид НЧ вводился в дозировке,

в 2 раза меньшей чем остальные. Тем не менее, более высокий эффект действия Al_2O_3 НЧ по сравнению с SiO_2 НЧ и TiO_2 НЧ особо существенен, причем генотоксичность изученных НЧ убывает в последовательности Al_2O_3 НЧ >> TiO_2 НЧ $\geq$ SiO_2 НЧ.

Генотоксичность, проявляющаяся усилением фрагментации ДНК в экспериментах при субхронической внутрибрюшинной экспозиции различных металлических и/или металлоксидных НЧ, была отмечена и в хронических ингаляционных экспериментах. Как видно из табл. 4, после воздействия НЧ SiO_2 повышенная фрагментация геномной ДНК была обнаружена как в ядросодержащих клетках крови, так и в клетках костного мозга, причем в последних особенно ясно видна зависимость этого эффекта от уровня воздействия.

НЧ NiO во все три срока эксперимента также проявляют выраженное генотоксическое действие, причем происходит нарастание этого эффекта с увеличением времени воздействия. $K_{\text{фр}}$ через 6 месяцев статистически значимо увеличивается по сравнению с 3-месячным воздействием, а $K_{\text{фр}}$ после 9 месяцев достоверно выше, чем $K_{\text{фр}}$ после 6 месяцев при отсутствии подобного нарастания контрольной группы.

В другом аналогичном по дизайну эксперименте с ингаляцией НЧ Fe_2O_3 было обнаружено увеличение $K_{\text{фр}}$ в печени и костном мозге, но без нарастания с удлинением периода воздействия.

Как видно из табл. 5, повышение $K_{\text{фр}}$ наблюдалось после экспозиции НЧ Fe_2O_3 как в печени, так и в костном мозге, и было высоко статистически значимым во все сроки эксперимента.

Результат, полученный в этом эксперименте, особо важен в связи с тем, что электродуговая сварка, в том числе так называемых мягких (т. е. не легированных) сталей признана на основании большого числа онкоэпидемиологических данных производственным процессом, вызывающим развитие рака у человека [19].

В составе сварочного аэрозоля преобладает субмикронная, в т.ч. нанометровая фракция Fe_2O_3 — вещества, не обладающего канцерогенностью в микрометровом диапазоне.

Таблица 3

Коэффициенты фрагментации геномной ДНК крыс в ядросодержащих клетках крови, подвергшихся субхронической заправке НЧ Mn_3O_4 или NiO во вводимой дозе 10 мг/кг массы тела 3 раза в неделю в течение 6 недель, ($X \pm S_x$)
Fragmentation coefficients of DNA from rats with nucleated blood cells subjected subchronic poisoning with nanoparticles of Mn_3O_4 or NiO in the injected dose of 10 mg/kg of body weight 3 times per week over 6 weeks, ($X \pm S_x$)

Показатель	Введено		
	НЧ Mn_3O_4	НЧ NiO	Вода (контроль)
Коэффициент фрагментации ДНК	0,51±0,01*	0,51±0,01*	0,42±0,0

Примечание: * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от контрольной группы.

Таблица 4

Коэффициент фрагментации геномной ДНК в ядросодержащих клетках крови и костного мозга у крыс, подвергшихся 6 месячной ингаляционной экспозиции НЧ SiO_2 , ($X \pm S_x$)

Fragmentation coefficients of DNA from rats with nucleated blood cells and bone marrow cells, subjected to 6 month inhalation exposure to nanoparticles SiO_2 , ($X \pm S_x$)

Ткань	Контроль	Концентрация SiO_2 , мг/м ³	
		2,6	10,6
Ядросодержащие клетки крови	0,4240±0,0005	0,4622±0,0004*	0,4704±0,0005**
Костный мозг	0,3995±0,0005	0,4043±0,0003*	0,4316±0,0003**

Примечания: * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие SiO_2 от контрольной группы; ** — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие между двумя опытными группами.

Показанная генотоксичность НЧ Fe_2O_3 при ингаляционном воздействии даже в относительно невысокой концентрации может рассматриваться как объяснение канцерогенности сварочного аэрозоля даже при отсутствии в его составе таких облигатных канцерогенов, как хром, никель и др.

С практических позиций регуляторной токсикологии и оценки рисков для здоровья, обусловленных воздействием наноматериалов, принципиально важно то, что для НЧ генотоксичность *in vivo* манифестируется при таком низком уровне экспозиции, при котором их системное токсическое действие на организменном уровне еще мало выражено

Таблица 5

Коэффициент фрагментации геномной ДНК в печеночных и костномозговых клетках крыс, подвергавшихся хронической ингаляционной загрузке НЧ Fe_2O_3 , ($X \pm S_x$)

Fragmentation coefficients of DNA from rats with liver and bone marrow cells subjected to chronic inhalation poisoning with nanoparticles of Fe_2O_3 , ($X \pm S_x$)

Орган	Время ингаляционной экспозиции, месяцев					
	3		6		10	
	Контроль	Fe_2O_3	Контроль	Fe_2O_3	Контроль	Fe_2O_3
Печень	0,417969± ±0,0002718	0,422847± ±0,0005175*	0,4175± 0,000369	0,4235± ±0,0003474*	0,417417± ±0,000342	0,424502± ±0,000566*
Костный мозг	0,399± ±0,000532	0,403895± ±0,0005175*	0,399583± ±0,000507	0,4047 ±0,000555*	0,398167 ± ±0,000572	0,404269+ +0,00053*

Примечание: * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от контрольной группы.

Таблица 6

Коэффициенты фрагментации геномной ДНК крыс, подвергавшихся субхронической загрузке НЧ серебра и/или БПК, ($X \pm S_x$)

Fragmentation coefficients of DNA from rats subjected to subchronic poisoning with silver nanoparticles and/or bioprophylaxis complex, ($X \pm S_x$)

Введено	Ткани					
	Печень	Костный мозг	Селезенка	Почка	Ядродержащие клетки периферической крови	скелетные мышцы
Вода (контроль)	0,399±0,001	0,3±0,003	0,379±0,002	0,385±0,003	0,383±0,001	0,352±0,002
НЧ Ag	0,461±0,002*	0,455±0,032*	0,462±0,001*	0,42±0,008*	0,413±0,012*	0,356±0,009
НЧ Ag + БПК	0,408±0,011*	0,373±0,003**	0,419±0,003**	0,407±0,006**	0,390±0,007	0,33±0,015*

Примечание: * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от контрольной группы; * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от группы НЧ Ag.

Таблица 7

Коэффициенты фрагментации геномной ДНК крыс, подвергавшихся субхронической загрузке НЧ оксида меди и/или БПК, ($X \pm S_x$)

Fragmentation coefficients of DNA from rats subjected to subchronic poisoning with copper oxide nanoparticles and/or bioprophylaxis complex, ($X \pm S_x$)

Орган	Вещество			
	Вода (контроль)	НЧ Cu	НЧ Cu+БПК	БПК
Печень	0,396±0,0020	0,426±0,0020*	0,404±0,002**	0,394±0,0040
Селезенка	0,369±0,0016	0,460±0,0020*	0,418±0,0015**	0,377±0,0028*
Головной мозг	0,354±0,0028	0,355±0,0020	0,335±0,0021*	0,356±0,0025

Примечание: * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от контрольной группы; * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от группы НЧ.

Таблица 8

Коэффициенты фрагментации геномной ДНК крыс, подвергавшихся хронической ингаляционной экспозиции НЧ оксида никеля и/или БПК, ($X \pm S_x$)

Fragmentation coefficients of DNA from rats subjected to chronic inhalation exposure to nickel oxide nanoparticles and/or bioprophylaxis complex, ($X \pm S_x$)

Ядродержащие клетки периферической крови	Время ингаляционной экспозиции 3 месяца			
	Контроль	НЧ NiO	НЧ NiO + БПК	БПК
	0,4229±0,0008	0,4480±0,0017*	0,4264±0,0008**	0,4219±0,0003

Примечания: * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от контрольной группы; * — статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от группы НЧ NiO.

[16,20,21]. По-видимому, для определенных наноматериалов не столько системная токсичность, сколько генотоксичность (и тем самым — вероятная канцерогенность) должна рассматриваться как лимитирующий риск.

С этих позиций приобретает особое значение поиск средств защиты организма не только от общетоксического, но и от генотоксического эффекта таких наноматериалов. Поэтому принципиально важным является показанная возможность подобной биологической защиты.

Из табл. 6 видны меньшие значения $K_{\text{фр}}$ в группе «НЧ Ag+БПК» по сравнению с группой «НЧ Ag» во всех тканях, причем в печени, костном мозге, селезенке и почке это различие статистически значимо.

Как видно из табл. 7, была статистически значимо ослаблена фрагментация геномной ДНК и при действии НЧ CuO в клетках печени и селезенки, но не в других исследованных органах. Важно подчеркнуть, что у животных, получавших БПК, по ряду функциональных и морфометрических показателей наблюдалось также ослабление общетоксического действия НЧ Ag и НЧ Cu [20].

Как видно из табл. 8, воздействие БПК ослабило (почти до полной нормализации) $K_{\text{фр}}$ и при ингаляционном воздействии НЧ NiO.

Механизмы защитного действия отобранных для испытания биопротекторов сложны и, по-видимому, взаимно потенцируют друг друга. Большое значение может иметь разное по молекулярным механизмам антиоксидантное действие, присущее ряду биопротекторов использованного комплекса (антиоксидантный синергизм), а также мембрано-стабилизирующее действие глутамата — поскольку оно может препятствовать повреждению митохондрий и оксидативному стрессу.

Выводы:

1. Интоксикация крыс, вызванная повторными внутрибрюшинными введениями элементных или элементнооксидных НЧ сопровождается усилением фрагментации геномной ДНК различных органов и тканей.

2. На фоне воздействия на организм изученных биопротекторов генотоксичность металлосодержащих НЧ может быть существенно ослаблена.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (см. REFERENCES pp. 1–17)

18. Минигалиева И.А., Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Шур В.Я. и др. Сравнительная и комбинированная токсичность наночастиц оксидов алюминия, титана и кремния и ее ослабление комплексом биопротекторов. *Токсикологический вестник*. 2018; 2: 18–27.

19. Канцерогенные факторы и основные требования к профилактике канцерогенной опасности: СанПиН 1.2.353–08. М., 2008.

20. Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А., Логинова Н.В., Гурвич В.Б., Шур В.Я., Макеев О.Г. и др. Пути повышения устойчивости организма к вредному действию наноматериалов на примере наносеребра и наноксида меди. *Гигиена и сан.* 2015; 94 (2): 31–5.

21. Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Сутункова М.П., Шур В.Я., Валамина И.Е., Макеев О.Г. и др. Комбинированная субхроническая токсичность наночастиц оксидов никеля и марганца и ее ослабление от комплекса биопротекторов. *Мед. труда и пром. экол.* 2016; 10: 25–8.

REFERENCES

1. Senapati V.A., Jain A.K., Gupta G.S., Pandey A.K., Dhawan A. Chromium oxide nanoparticle-induced genotoxicity and p53-

dependent apoptosis in human lung alveolar cells. *J. Appl. Toxicol.* 2015; 35 (10): 1179–80. doi: org/10.1002/jat. 3174

2. Kang S.J., Ryoo I.G., Lee Y.J., Kwak M.K. et al. Role of the Nrf2-heme oxygenase-1 pathway in silver nanoparticle-mediated cytotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2012; 258 (1): 89–98. doi: 10.1016/j. taap. 2011.10.011.

3. Buffet P.E., Richard M., Caupos F., Vergnoux A., Perrein-Ettajani H., Luna-Acosta A., A mesocosm study of fate and effects of CuO nanoparticles on endobenthic species (*Scrobicularia plana*, *Hediste diversicolor*). *Environmental science & technology*. 2013; 47(3): 1620–1628. doi: 10.1021/es303513r.

4. Bayat N., Rajapakse K., Marinsek-Logar R., Drobne D., Cristobal S. The effects of engineered nanoparticles on the cellular structure and growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nanotoxicology*. 2014; 8(4): 363–373.

5. Alarifi S., Ali D., Verma A., Alakhtani S. et al. Cytotoxicity and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in human skin keratinocytes cells. *International journal of toxicology*. 2013; 32(4): 296–307. DOI: 1091581813487563.

6. Bhattacharya K., Davoren M., Boertz J., Schins R.P., Hoffmann E., Dopp E. Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress and DNA-adduct formation but not DNA-breakage in human lung cells. *Part. Fibre. Toxicol.* 2009; 6: 17. DOI: 10.1186/1743–8977–6–17.

7. Gomaa I.O., Kader M.H., Salah T.A., Heikal O.A. Evaluation of in vitro mutagenicity and genotoxicity of magnetite nanoparticles. *Drug discoveries & Therapeutics*. 2013; 7(3): 116–23.

8. Kain J., Karlsson H.L., Möller L. DNA damage induced by micro- and nanoparticles — interaction with FPG influences the detection of DNA oxidation in the comet assay. *Mutagenesis*. 2012; 27(4): 491–500.

9. Perreault F., Perreault F., Pedrosa M.S., Henning da Costa C., de Oliveira Franco Rossetto A.L et al. Genotoxic effects of copper oxide nanoparticles in Neuro 2A cell cultures. *Science of The Total Environment*. 2012; 441: 117–24.

10. Freyria F.S., Bonelli B., Tomatis M., Ghiazza M., Gazzano E. et al. Hematite nanoparticles larger than 90 nm show no sign of toxicity in terms of lactate dehydrogenase release, nitric oxide generation, apoptosis, and comet assay in murine alveolar macrophages and human lung epithelial cells. *Chem. Res. toxicol.* 2012; 25(4): 850–61. DOI: 10.1021/tx2004294.

11. Karlsson H.L., Cronholm P., Gustafsson J., Möller L. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chem Res Toxicol.* 2008; 21(9): 1726–32. DOI: 10.1021/tx800064j.

12. Karlsson H.L., Gustafsson J., Cronholm P., Möller L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles — a comparison between nano- and micrometer size. *Toxicol Lett.* 2009; 188 (2): 112–8. DOI: 10.1016/j. toxlet. 2009.03.014.

13. Balasubramanyam A., Sailaja N., Mahboob M., Rahman M.F., Hussain S. M. et al. In vivo genotoxicity assessment of aluminium oxide nanomaterials in rat peripheral blood cells using the comet assay and micronucleus test. *Mutagenesis*. 2009; 24 (3): 245–51. DOI: 10.1093/mutage/geb003

14. Singh S.P., Rahman M.F., Murty U.S., Mahboob M., Grover P. Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2013; 266(1): 56–66.

15. Tavares P., Balbinot F., Oliveira H.M., Fagundes, G.E., Venâncio M. Ronconi J. et al. Evaluation of genotoxic effect of silver nanoparticles (Ag-Nps) in vitro and in vivo. *J. Nanoparticle Research*. 2012; 14: 791.

16. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.G., Shur V.Ya., Bejkin Ya.B. et al. Comparative in Vivo Assessment of Some Adverse Bioeffects of Equidimensional Gold and Silver

Nanoparticles and the Attenuation of Nanosilver's Effects with a Complex of Innocuous Bioprotectors. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013; 14: 2449–83.

17. Minigaliyeva A.I., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B. et al. In vivo toxicity of copper oxide, lead oxide and zinc oxide nanoparticles acting in different combinations and its attenuation with a complex of innocuous bioprotectors. *Toxicology*. 2017; 380: 72–93.

18. Minigaliyeva A.I., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya. et al. Comparative and combined toxicity of aluminium, titanium and silicon oxides nanoparticles and its attenuation with bioprotectors combination. *Toksikologicheskij vestnik*. 2018; 2: 18–27. (in Russian).

19. Carcinogenic factors and general requirements to cancer prevention. *SanPiN 1.2.2353–08*. М., 2008. (in Russian).

20. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Ya., Makeyev O.G. et al. Increasing individual resistance to harmful effects of nanomaterials: the cases of silver and copper nanoparticles exposure. *Gigiyena i san.* 2015; 94 (2): 31–5 (in Russian).

21. Minigaliyeva A.I., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Shur V.Ya., Valamina I.Ye., Makeyev O.G. et al. Nickel and manganese oxides nanoparticles combined subchronic toxicity and its attenuation with bioprotectors combination. *Med. truda i prom. ekol.* 2016; 10: 25–8 (in Russian).

Поступила 28.09.2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сутункова Марина Петровна (Marina P. Sutunkova),

ст. науч. сотр., зав. лаб. токсикологии окружающей среды
ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора. E-mail:
marinasutunkova@yandex.ru.

<http://orcid.org/0000-0002-1749-7642>

Макеев Олег Германович (Oleg G. Makeyev),

зав. лаб. клеточной и генной терапии, Институт медицин-
ских клеточных технологий, ГБОУ ВПД «УГМУ». E-mail:
ommt305@mail.ru.

<http://orcid.org/0000-0001-6819-3185>

Привалова Лариса Ивановна (Larisa I. Privalova),

гл. науч. сотр., зав. лаб. научных основ биопрофилактики
ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, E-mail:
privalovali@yahoo.com.

<http://orcid.org/0000-0002-1442-6737>

Минигалиева Ильзира Амировна (Il'zira A. Minigaliyeva),

ст. науч. сотр., зав. лаб. пром. токсикол. ФБУН «ЕМНЦ
ПОЗРПП» Роспотребнадзора. E-mail: ilzira@ymrc.ru.

<https://orcid.org/0000-0002-0097-7845>

Гурвич Владимир Борисович (Vladimir B. Gurvich),

дир. ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора. E-mail:
gurvich@ymrc.ru.

<http://orcid.org/0000-0002-6475-7753>

Соловьева Светлана Николаевна (Svetlana N. Solov'yova),

мл. науч. сотр. отд. токсикол. и биопроф. ФБУН «ЕМНЦ
ПОЗРПП» Роспотребнадзора. E-mail: lab523@ymrc.ru.

<http://orcid.org/0000-0001-8580-403X>

Клинова Светлана Владиславовна (Svetlana V. Klinova),

мл. науч. сотр. отд. токсикол. и биопроф. ФБУН «ЕМНЦ
ПОЗРПП» Роспотребнадзора, e-mail: klinovav@ymrc.ru.

<http://orcid.org/0000-0002-0927-4062>

Рузаков Вадим Олегович (Vadim O. Ruzakov),

науч. сотр. отд. мед. тр. ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Ро-
спотребнадзора. E-mail: ruzakov_vo@66.rospotrebnadzor.
ru

<http://orcid.org/0000-0002-8902-0416>

Коротков Артем Владимирович (Artyom V. Korotkov),

вед. науч. сотр. Институт медицинских клеточных техноло-
гий ГБОУ ВПД «УГМУ», E-mail: ommt305@mail.ru.

<http://orcid.org/0000-0001-5114-6104>

Шуман Евгений Александрович (Evgeniy A. Shuman),

мл. науч. сотр. Институт медицинских клеточных техноло-
гий ГБОУ ВПД «УГМУ». E-mail: ommt305@mail.ru.

<http://orcid.org/0000-0003-1981-4330>

Кацнельсон Борис Александрович (Boris A. Katsnelson),

зав. отд. токсикол. и биопроф. ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Ро-
спотребнадзора. E-mail: bkaznelson@etel.ru.

<http://orcid.org/0000-0001-8750-9624>

УДК 613.648.4–616–092.9

Ильдербаев О.З.¹, Кашанский С.В.², Чуленбаева Л.Е.¹, Мынжанов М.Р.³, Ильдербаева Г.О.³

НАРУШЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. К. Мунайтпасова, 5, Астана, Казахстан, 010000;

²ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, ул. Попова, 30, Екатеринбург, Россия, 620014;

³Государственный медицинский университет г. Семей, ул. Абая Кунанбаева, 103, г. Семей, Казахстан, 071400

Представлены экспериментальные данные о влиянии высокой дозы гамма-излучения 6 Гр на иммунную систему, продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ).

Установлено, что эффект высокой дозы радиации вызывает угнетение клеточной системы иммунитета, особенно Т-лимфоцитов и их субпопуляций, защитно-приспособительных механизмов организма иммунного характера. Влияние ионизирующей радиации привело к увеличению уровня диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА), угнетению активности ферментов каталазы (КТ) и глутатионпероксидазы (ГП) почти во всех исследуемых объектах, в результате чего в них наблюдалось развитие окислительного стресса. Результаты исследования свидетельствуют о серьезных изменениях в липопероксидации и антиоксидантной системе (АОС) при радиационном стрессе. Угнетение клеточного и гуморального иммунитета, мононуклеарно-фагоцитарной системы и дисбаланс ПОЛ-АОЗ создают предпосылки для возникновения иммунопатологических состояний, способствуя развитию радиационно-обусловленной опухолевой патологии. Нарушения функциональных взаимосвязей каталитической редокс-системы