

3. Зайцева Н.В., Долгих О.В., Предеина Р.А. и др. // Здоровье семьи — 21 век. — 2013. — № 4(4). — С. 27–39.
4. Измеров Н.Ф., Тихонова Г.И. // Проблемы прогнозирования. — 2011. — № 3. — С. 56–70.
5. Онищенко Г.Г. // Здравоохран. РФ. — 2009. — № 2. — С. 7–12.
6. Халимов Ю.Ш., Сухонос Ю.А., Цепкова Г.А. и др. // Вестн. Росс. военно-мед. академии. — 2014. — № 2 (46). — С. 7–12.

REFERENCES

1. Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Bubnova O.A., Alekseev V.B. // Analiz riska zdorov'yu. — 2013. — 4. — P. 77–81 (in Russian).
2. Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Gugovich A.M., et al. // Industr. med. — 2012. — 12. — P. 30–33 (in Russian).
3. Zaytseva N.V., Dolgikh O.V., Predeina R.A., et al. // Zdorov'e sem'i — 21 vek. — 2013. — 4 (4). — P. 27–39 (in Russian).
4. Izmerov N.F., Tikhonova G.I. // Problemy prognozirovaniya. — 2012. — 3. — P. 56–70 (in Russian).
5. Onishchenko G.G. // Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii. — 2009. — 2. — P. 7–12 (in Russian).
6. Khalimov Yu.Sh., Sukhonos Yu.A., Tsepikova G.A., et al. // Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii. — 2014. — 2 (46). — P. 7–12 (in Russian).
7. Banerjee B.D., Chakraborti A., Suke S.G. et al. // Indian journal of biochemistry and biophysics. — 2008. — V. 45. — P. 7–15.
8. Dolgikh O., Zaitseva N., Dianova D., Krivtsov A. // In vivo: International Journal of Experimental and Clinical Patho-

physiology and Drug Research. — 2011. — V. 25. — No. 3. — P. 523–524.

9. Jeng H.A., Pan C.H., Diawara N. et al. // Occupational and Environmental Medicine. — 2011. — V. 68(9). — P. 653–658.

Поступила 20.10.2015

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Старкова Ксения Геннадьевна (Starkova K.G.),
зав. лаб. иммунологии и аллергологии ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», канд. биол. наук. E-mail: skg@fsrisk.ru.
- Долгих Олег Владимирович (Dolgikh O.V.),
зав. отд. иммунобиол. методов диагностики ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», проф. каф. экологии человека и безопасности жизнедеятельности Пермского гос. национального иссл. университета, проф. каф. охраны окружающей среды Пермского национального иссл. политехнического университета, д-р мед. наук, проф. E-mail: oleg@fcrisk.ru.
- Кривцов Александр Владимирович (Krivtsov A.V.),
зав. лаб. иммуногенетики ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», канд. мед. наук. E-mail: krivtsov@fcrisk.ru.
- Бубнова Ольга Алексеевна (Bubnova O.A.),
мл. науч. сотр. лаб. иммуногенетики ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». E-mail: oleg@fcrisk.ru.
- Хорошавин Виктор Алексеевич (Horoshavin V.A.),
зам. рук. Управления Роспотребнадзора по Пермскому краю, д-р мед. наук. E-mail: urpn@59.rosptrebnadzor.ru.

УДК 615.9

В.Н. Звездин¹, М.А. Землянова^{1–3}, Т.И. Акафьева²

ТОКСИЧНОСТЬ АЭРОЗОЛЯ НАНОДИСПЕРСНОГО ОКСИДА МАРГАНЦА ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ

¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», ул. Монастырская, 82, Пермь, Россия, 614045

²ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», ул. Букирева, 15, Пермь, Россия, 614990

³ФГБОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», Комсомольский проспект, 29, Пермь, Россия, 614990

Представлены результаты экспериментального исследования острой ингаляционной токсичности нанодисперсного оксида марганца, широко используемого в производстве продуктов нового поколения. В ходе технологического процесса возможно образование в воздухе рабочей зоны аэрозоля наноразмерного оксида марганца, что обуславливает опасность ингаляционного экспонирования работающих. Установлено, что исследуемое вещество является наноматериалом с преимущественным размером сечения частиц нитевидной формы 15–29 нм. Вещество обладает острой токсичностью при ингаляционном воздействии в виде аэрозоля. CL_{50} при 4-часовой экспозиции для крыс линии Wistar составляет 120 мг/м³ (1-й класс опасности). Клиническая картина острой интоксикации характеризуется преимущественно раздражающим и нейротоксическим эффектами действия, что подтверждается результатами морфологических исследований. Гистологическая картина ткани головного мозга характеризуется патологическими

изменениями преимущественно в мозжечке в виде ишемии, проявляющейся расширением перивентрикулярных пространств, формированием сотового рисунка.

Ключевые слова: нанодисперсный оксид марганца, ингаляционная экспозиция, рабочая зона, токсичность, морфологические изменения.

V.N. Zvezdin¹, M.A. Zemlyanova¹⁻³, T.I. Akafieva². **Inhalation toxicity of nanodispersed manganese oxide aerosol**

¹FBSI «Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies», 82, Monastyrskaya St, Perm, Russia, 614045

² FSBEI of Higher Professional Education «Perm State National Research University», 15, Bukireva St., Perm, Russia, 614990

³ FSBEI of Higher Professional Education «Perm National Research Polytechnic University», 29, Komsomolsky prospekt, Perm, Russia, 614990

The article presents results of experimental study concerning acute inhalation toxicity of nanodispersed manganese oxide widely used in novelty goods production. During the technology process, nano-dimensional manganese oxide aerosol could appear in workplace air — that causes danger of the workers' inhalation exposure. Findings are that the studied substance is a nanomaterial with prevalent filiform particles measuring 15–29 nm. The substance is acutely toxic when inhaled as an aerosol. Cl_{50} for 4-hour exposure for Wistar rats equals 120 mg/m³ (1 jeopardy class). Clinical manifestations of acute intoxication are mostly irritative and neurotoxic effects supported by morphologic studies. Histopathologic changes in brain tissue are cerebellar ischemia with dilated pericellular spaces, faveolate appearance.

Key words: nanodispersed manganese oxide, inhalation exposure, workplace, toxicity, morphologic changes.

Нитевидные наноразмерные частицы оксида марганца являются перспективным материалом для создания продукции нового поколения: современных сорбентов [9], сенсорных электродов [1,3], катодных катализаторов [8]. В ходе технологического процесса возможно образование в воздухе рабочей зоны аэрозоля наноразмерного оксида марганца, что обуславливает опасность ингаляционного экспонирования работающих.

В ряде исследований [6,8,14] сообщается о наличии у наночастиц оксида марганца токсического действия при ингаляционной экспозиции. После 24-часовой экспозиции в альвеолярных эпителиальных клетках человека [6] выявлено усиление каталитической генерации активных форм кислорода (АФК), увеличение уровня внеклеточной и внутриклеточной окисленной формы глутатина на 30 и 80% соответственно [13]. Наночастицы оксида марганца (IV) размером до 30 нм способны проникать внутрь нейроноподобных клеток РС-12 головного мозга по обонятельному нерву [5], накапливаться в астроцитах [10,12]. Наблюдается незначительное угнетение митохондриальной деятельности, дозозависимое уменьшение концентрации дофамина и его метаболитов. Данный процесс сопровождается многократным увеличением АФК [9] и проявляется у экспериментальных животных нейродегенеративными нарушениями уже через 2–3 недели экспозиции [5] активацией протеолитического расщепления, опосредованного каспазой-3 и протеинкиназой Сδ (ферментами, участвующими в процессах апоптоза, некроза и воспалительных процессах), а также активацией цикла фосфорилирования [4,7,11].

В связи с этим, для широкого внедрения перспективных технологий использования наноразмерного

оксида марганца в промышленном производстве и обеспечения безопасности работающих актуальным является детальное исследование токсичности аэрозоля нанодисперсного оксида марганца, в том числе при однократном ингаляционном поступлении в организм.

Материалы и методы. В качестве исследуемого вещества использована водная суспензия нанодисперсного оксида марганца в концентрации $36 \pm 2,3$ мг/см³. Описание синтеза нанодисперсного оксида марганца представлено в предыдущих публикациях [2,15]. Размер и форму частиц оксида марганца в водной суспензии оценивали методом динамического лазерного светорассеяния на анализаторе Horiba LB-550 (Horiba, Япония), методом электронной микроскопии на сканирующем микроскопе высокого разрешения (3–10 нм, максимальное увеличение 300000X) S-3400N (Hitachi, Япония) с приставкой для рентгеновского энергодисперсионного микроанализа (Bruker, Германия). Концентрацию оксида марганца в водной суспензии оценивали методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7500cx (США). Перед проведением аналитических исследований осуществляли диспергирование тестируемого вещества с помощью ультразвукового гомогенизатора Sonopuls Hd 3200 (Bandelin, Германия) при комнатной температуре в режиме непрерывной пульсации при 65%-ной мощности в течение двух минут.

Исследование и оценка острой токсичности водной суспензии нанодисперсного оксида марганца при ингаляционном поступлении в виде аэрозоля выполнена в соответствии с ГОСТ 32646–2014, класс опасности вещества установлен в соответствии с ГОСТ 12.1.007.76. Моделирование ингаляционного поступления вещества в организм экспериментальных жи-

вотных осуществляли в Ингаляционной системе с интегрированным программным обеспечением с использованием камеры для всего тела (TSE Systems GmbH, Германия). Эксперимент проведен на половозрелых крысах линии Wistar массой 220 ± 15 г, разделенных на 2 группы (опытную и контрольную по 3 самки и 3 самца в каждой). Опытная группа № 1 подвергалась ингаляционной экспозиции тестируемого вещества в течение 4 ч. при номинальной концентрации вещества в камере $0,05 \text{ мг/дм}^3$. Период наблюдения за животными составил 48 часов. Контрольную группу подвергали экспозиции аэрозоля на основе дистиллированной воды, соответствующей ТУ 6–09–2502–77 при аналогичных условиях. Все работы с животными выполнены с соблюдением этических норм [5].

Отбор проб воздуха в ингаляционной камере осуществляли на фильтр АФА-ВГ–10–1 (Россия). Фактическую концентрацию тестируемого вещества в воздухе камеры оценивали методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7500сх (США) с октопольной реакционной / столкновительной ячейкой. Определение количества наночастиц в камере (концентрации) выполнено с помощью диффузионного аэрозольного спектрометра (ООО «Аэронанотех», Россия).

По окончании срока наблюдения животных выводили из эксперимента щадящим методом эвтаназии. Извлечение головного мозга выполнено специализированным инструментом. Ткани головного мозга фиксировали в 5%-ном растворе забуференного нейтрального формалина с последующей дегидратацией в автоматическом гистологическом процессоре «Excelsior ES» (Thermo Scientific, Германия). Гистологические препараты, изготовленные из парафиновых срезов толщиной 3–4 микрона, окрашивали по общепринятой методике гематоксилином и эозином в роботе-окрашивателе «Varistain Gemini ES» (Thermo Scientific, Германия) и исследовали на светооптическом микроскопе Axio Lab A1 (Carl Zeiss, Германия) с микрофотографированием с помощью камеры «Mikroskopkamera AxioCam ERc 5s» (Carl Zeiss, Германия) при увеличении $\times 400$.

Результаты исследования и их обсуждение.

В изученном образце оксида марганца 94,4% составили частицы с размером поперечного сечения 15–29 нм. Остальные частицы 13 нм и 33–100 нм составили соответственно 1,2 и 4,1% общего количества частиц. По результатам сканирующей электронной микроскопии установлено, что визуализируемые частицы имеют размер 20 нм и более. Анализ физических характеристик частиц тестируемого вещества свидетельствует об их соответствии необходимым параметрам для создания сенсорных электродов [6], что позволило использовать нанодисперсный оксид марганца для моделирования острой ингаляционной экспозиции.

Оценка количества наночастиц в воздухе ингаляционной камеры показала, что нанодисперсная фракция,

переходя в аэрозоль, не агломерирует до микрометрового диапазона (рис. 1). Наибольшее количество частиц (99%) при исследованных фактических концентрациях через 2 часа и 4 часа экспозиции не превышает размер 100 нм.

Клиническая картина эффектов острой интоксикации при ингаляционной экспозиции в фактической концентрации $0,029 \pm 0,001 \text{ мг/дм}^3$ характеризуются нейротоксическим эффектом в виде нарушения координатности движения, снижения реакции на звуковые раздражители и сохраняется у выживших животных в течение 48 часов после экспозиции. В фактической концентрации $0,472 \pm 0,005 \text{ мг/дм}^3$ отмечены выраженные явления дыхательной недостаточности. Наибольшая гибель (5 животных из 6) отмечена в период 2,5–3 часа от начала эксперимента. CL_{50} составила 120 мг/м^3 , что в соответствии с ГОСТ 12.1.007.76 позволило отнести тестируемое вещество к 1-му классу опасности.

Морфологические изменения тканей головного мозга животных опытной группы № 1 относительно изменений в контрольной группе характеризовались слабым и умеренным кровенаполнением сосудов вещества мозга с очаговым набуханием эндотелия, расширением периваскулярных пространств. Наиболее выраженные изменения структур мозга установлены в мозжечке (рис. 2). Нейроны и клетки нейроглии имеют тяжелые ишемические повреждения в виде сморщивания и пикноза. Нервные волокна мозгового вещества расположены рыхло, окрашены неравномерно с нечеткими контурами и очаговым выпадением глиальных элементов.

Полученные результаты свидетельствуют о способности исследуемых наноразмерных частиц оксида марганца вызывать нейротоксический эффект. Наличие токсического действия на клетки нервной системы доказано как для наночастиц [4,14], так и для микродисперсного аналога при низкодозовом воздействии. Но у нанодисперсных частиц данный эффект может быть более выраженным по сравнению с микроразмерными частицами в связи с большей удельной площадью поверхности частиц. В основе нейротоксического механизма действия может лежать нарушение функций мембран нейронов в результате перекисного окисления мембранных липидов, вызванного прямым цитотоксическим действием наночастиц, установленным для дофаминэргических нейронов [4,9].

Выводы. 1. Нанодисперсный оксид марганца обладает острой токсичностью при ингаляционном поступлении в виде аэрозоля. 2. Явления острой интоксикации характеризуются нейротоксическим эффектом, который сохраняется у выживших экспериментальных животных через 92 часа после экспозиции. CL_{50} при 4-часовой экспозиции для крыс линии Wistar составляет 120 мг/м^3 , 1 класс опасности. 3. Установленные параметры токсичности необходимы для обоснования допустимого уровня аэрозоля нанодисперсного оксида марганца в воздухе рабочей зоны для обеспечения безопасности работающих.

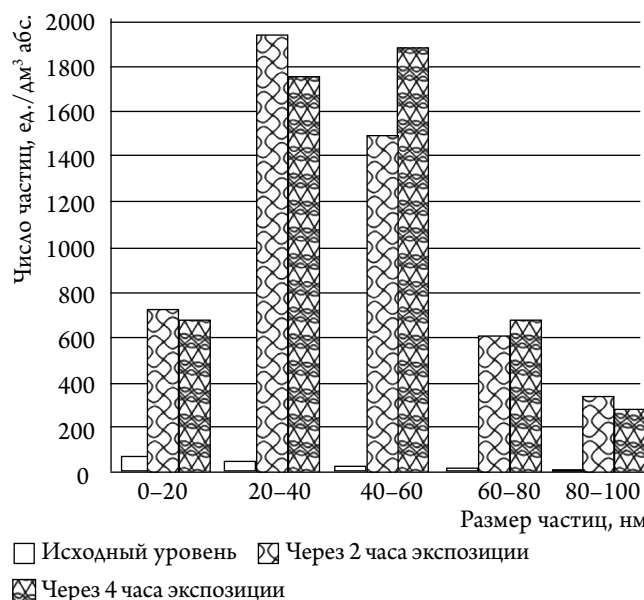


Рис. 1. Концентрация наночастиц в воздухе ингаляционной камеры при фактической концентрации оксида марганца $0,029 \pm 0,001$ мг/дм³

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (см. REFERENCES стр. 4–15)

1. Донцова Е.А. Сенсорные электроды на основе наночастиц диоксида марганца: дис. ... канд. хим. наук. — М., 2011. — 170 с.
2. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н. и др. // Вопросы питания. — 2012. — Т. 81, № 5. — С. 13–19.
3. Патент РФ № 2396638 07.05.2009. Портативный источник тока / Трусов А.И., Федотов В.П., Красько А.Б. и др. М., 2010.

REFERENCES

1. Dontsova E.A. Sensory electrodes based on manganese dioxide nanoparticles: diss. — Moscow, 2011. — 170 p. (in Russian).
2. Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., et al. // Voprosy pitaniya. — 2012. — V. 81. — 5. — P. 13–19 (in Russian).
3. Trusov L.I., Fedotov V.P., Kras'ko L.B. Portable electric current source. Patent RF, N 2396638; 07/05/2009. — Moscow, 2010 (in Russian).
4. Afeseh Ngwa H., Kanthasamy A., Gu Y., Fang N. // Toxicol Appl Pharmacol. — 2011. — № 256. — P. 227–240.
5. Elder A., Gelein R., Silva V. et al. // Environ. Health Perspectives. — 2006. № 114. — P. 1172–1178.
6. Frick R., Müller-Edenborn B., Schlicker A., Rothen-Rutishauser B. // Toxicol Lett. — 2011. — № 205. — P. 163–172.
7. Horváth E., Máté Z., Takács S., Pusztai P. // The Scientific World Journal. 2012 [Электронный ресурс]. URL: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/520632> (дата обращения: 02.06.2015).
8. Hussan Saber M. // Toxicol. Science. 2006. — V. 92. — № 2. — P. 456–463.
9. Li T., Shi T., Li X. et al. // Int. J. Environ. Res. Public Health. — 2014. — № 11. — P. 7918–7930.
10. Meynen V., Cool P., Vansant E.F. // Microporous and mesoporous materials. — 2009. — № 125. — P. 170–223.
11. Ostiguy C., Asselin P., Malo S., Nadeau D. Prise en charge du manganisme d'origine professionnelle: Consensus d'un groupe

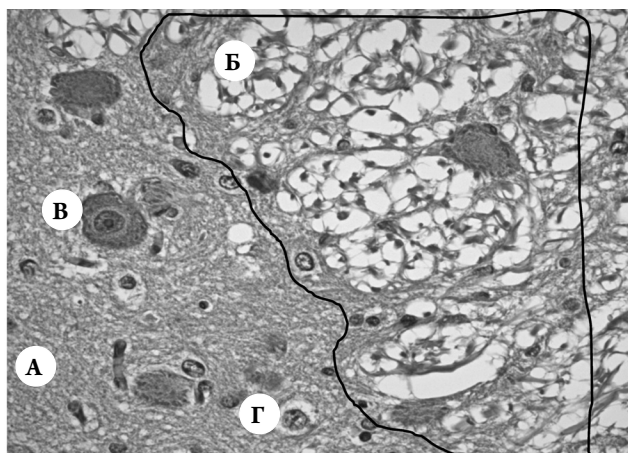


Рис. 2. Мозжечок крысы линии Wistar (окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$) при острой ингаляционной экспозиции аэрозоля нанодисперсного оксида марганца: А — сохранная ткань мозжечка, Б — очаг ишемии (тяжелые ишемические изменения), отек (зона повреждения обозначена линией), В — моторный нейрон подкорки мозжечка, Г — клетки глии с расширением перичеселлюлярных пространств.

d'experts: rapport IRSST, № 416 // IRSST. — Montreal, 2005. — 62 p.

12. Stefanescu D., Khoshnaw A., Patterson P., Hering J. // Journal of Nanoparticle Research. — 2009. — № 11 (8). — P. 1957–1969.
13. Wang J., Rahman M., Duhart H., Newport G. // NeuroToxicology. — 2009. — № 30. — P. 926–933.
14. Wisanti L., Xihong Lin., Robert F. Herrick et al. // Neurotoxicology. 2011. — V. 32 (2). — P. 171–179.
15. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., et al. // Nanotechnologies in Russia. — 2015. — V. 10. — № 5–6. — P. 468–474. Oberdorster G. // Environmental Health Perspective. 2005. № 7. P. 823–839.

Поступила 20.10.2015

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Звездин Василий Николаевич (Zvezdin V.N.),
науч. сотр. лаб. биохимич. и наносенсорной диагн. ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», канд. мед. наук. E-mail: zvezdin@fcrisk.ru.

Землянова Марина Александровна (Zemlyanova M.A.),
зав. отд. биохимич. и цитогенетических методов диагн. ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», проф. каф. экологии человека и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВПО «Пермский государственный научный исследовательский университет», проф. каф. охр. окруж. среды ФГБОУ ВПО «Пермский научный исследовательский политехнический университет», д-р мед. наук. E-mail: zem@fcrisk.ru.

Акафьева Татьяна Игоревна (Akafieva T.I.),
специалист по нанотехнологиям лаб. биохимической и наносенсорной диагностики ФГБОУ ВПО «Пермский государственный научный исследовательский университет». E-mail: tania.akafieva@gmail.com.