

А.В.Глушкова, А. С.Радилов, В.Р.Рембовский

НАНОТЕХНОЛОГИИ И НАНОТОКСИКОЛОГИЯ – ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
ФМБА, Санкт – Петербург

Анализ данных литературы показал, что наночастицы обладают более высокой токсичностью по сравнению с обычными микрочастицами, способны проникать в неизменном виде через клеточные барьеры, а также через гематоэнцефалический барьер в центральную нервную систему, циркулировать и накапливаться в органах и тканях, вызывая более выраженные патоморфологические поражения внутренних органов, а также обладают длительным периодом полувыведения. Токсичность наночастиц определяется их формой и размерами, при этом мельчайшие наночастицы веретенообразной формы вызывают более разрушительные эффекты в организме, нежели подобные им частицы сферической формы, при воздействии на организм отчетливо прослеживается связь «доза-эффект». Классические органы-мишени для наночастиц в зависимости от пути поступления - легкие, печень, почки, головной мозг, желудочно-кишечный тракт.

Ключевые слова: наночастицы, нанотехнологии, токсическое действие.

Научные исследования, касающиеся использования нанотехнологий в области охраны здоровья населения, наглядно показали существование огромного положительного экономического потенциала в этой области. Несомненно, что одной из важнейших возможностей нанотехнологий является развитие новых эффективных способов лечения пациентов с различными заболеваниями, их использование может также значительно расширить ограниченные на сегодняшний день возможности молекулярной диагностики [3, 5].

Термин «нанотехнология» (процесс разделения, сборки и изменения материалов путем воздействия на них одним атомом или одной молекулой) был предложен в 1974 г. Норио Танигучи [4, 7].

Практическое применение свойств наноматериалов безусловно приведет к существенному техническому прогрессу и преобразованию целых областей современной экономики, однако не менее актуальной представляется проблема прогнозирования и оценки возможного влияния новых материалов и технологий на здоровье человека и окружающую среду, а также разработка соответствующих стандартов безопасности.

В литературе описаны свойства и влияние на организм наночастиц серебра, меди, алюминия, диоксида титана, оксидов цинка и кремния, фуллеренов, углеродных нанотрубок, содержащих различные металлы (железо, никель, йод и др.), полупроводниковых нанокристаллов, магнетических наночастиц и ряда других.

Ингаляционная токсичность наночастиц серебра размером 19,8—64,9 нм изучалась в течение 28 дней на крысах при воздействии в концентрациях: $1,73 \cdot 10^4$, $1,27 \cdot 10^5$ и $1,32 \cdot 10^6$ частиц/см³. Животных подвергали экспонированию по 6 ч в течение 5 дней с двухдневным перерывом, на протяжении 4 недель. Обнаружено достоверное увеличение γ - глутамилтрансферазы, нейтрофилов и эозинофилов в сыворотке крови у женских особей (концентрация $1,73 \cdot 10^4$ частиц/см³), увеличение общего гемоглобина в сыворотке крови у женских особей (концентрация $1,27 \cdot 10^5$ частиц/см³), увеличение кальция и общего белка в сыворотке крови крыс обоего пола (концентрация $1,27 \cdot 10^6$ частиц/см³). Наночастицы серебра обладали способностью осажаться в печени, проникать в результате аксонального транспорта в обонятельную луковицу головного мозга. Установлена высокая стабильность наночастиц серебра в окружающей среде и способность сохранять токсические свойства на протяжении длительного времени [8].

Полупроводниковые нанокристаллы (квантовые точки), содержащие CdSe/ZnS, являются ультратонкими наночастицами с диаметром 3,2 нм способными проникать при ингаляционном пути поступления через обонятельный тракт в головной мозг и центральную нервную систему. Животных подвергали воздействию аэрозоля водного раствора фосфолипид-инкапсулированных CdSe/ZnS квантовых точек в концентрации 7 мг/м³ интраназально в течение 3 ч с использованием небулайзера (ингалятора) со скоростью потока 8 л/мин. В период до 5 ч после экспозиции было

обнаружено проникновение наночастиц по ольфакторному нерву через гематоэнцефалический барьер в кору головного мозга [6].

В литературе имеются сведения о проведении серии токсикологических исследований микрочастиц, наночастиц и иончастиц меди в гидроксиполиметилцеллюлозе К4М, которая являлась суспензирующей основой. Были установлены параметры токсикометрии при пероральном введении: DL_{50} для наночастиц меди — 413 мг/кг; DL_{50} для иончастиц меди — 110 мг/кг; DL_{50} для микрочастиц меди — 5000 мг/кг.

У большинства животных, получавших наночастицы меди, наблюдали выраженные симптомы поражения желудочно-кишечного тракта — снижение аппетита, диарею, рвоту. У животных, получавших наночастицы меди, наблюдали вялость, олигопноэ, тремор, опистотонус. При экспозиции наночастицами меди в растворе гидроксиполиметилцеллюлозы К4М перорально в дозе 1080 мг/кг у экспериментальных животных при некропии отмечено изменение цвета почечной ткани на бронзовый, а также гибель клеток проксимальных канальцев, гломерулонефроз, массивный некробиоз, в селезенке — атрофия и изменения цвета. Кроме перечисленных выше сдвигов отмечены изменения биохимических показателей крови - азота мочевины, креатинина, общих желчных кислот и щелочной фосфатазы, свидетельствующие о почечной и печеночной дисфункции [1].

Наночастицы TiO_2 , могут стимулировать выработку свободных радикалов и обладают сильным окислительным эффектом. По данным ряда исследователей (Bermudez et al., 2002, 2004; Driscoll et al., 1990; Henderson et al., 1995; Warheit et al., 2005), ингаляционное поступление приводит к повышению числа нейтрофилов и фагоцитов в бронхоальвеолярных смывах и распределению наночастиц в легких. DL_{50} наночастиц TiO_2 для крыс перорально составляет более 12000 мг/кг. Последние исследования Ваан и его исследовательской группы из Международного агентства по исследованию рака (IARC) показали, что наночастицы TiO_2 могут обладать канцерогенным действием для человека (Baan et al., 2006).

В экспериментах *in vivo* наблюдали увеличение массы печени и некроз гепатоцитов при воздействии наночастиц TiO_2 размером 80 нм, а также длительный период их полувыведения, поскольку они практически не выводятся почками. Oberdorster et al. (1994) отмечают, что период полувыведения из легких крыс составляет от 117 до 541 дня в зависимости от размера наночастиц (250—25 нм соответственно).

Однократное пероральное введение наночастиц TiO_2 размером 25 нм и 80 нм в дозе 5000 мг/кг в опытах *in vivo* вызывало их накопление

в селезенке, почках и легких, повышение в сыворотке крови лактатдегидрогеназы и α -гидроксibuтиратдегидрогеназы (25 нм), а также увеличение массы печени и некроз гепатоцитов (80 нм). При ингаляционной экспозиции ультратонкими частицами TiO_2 (0,8 мкм, 10 мг/м³) в течение 1 года (Heinrich et al., 1995) наблюдали снижение продолжительности жизни за счет накопления наночастиц TiO_2 в организме, уменьшение массы тела экспериментальных животных, повышение числа нейтрофилов и фагоцитов в бронхоальвеолярных смывах, воспалительные изменения, эпителиальную пролиферацию и фибропролиферативное повреждение легких (Bermudez et al., 2002; Warheit et al., 1996).

Кроме того, Yamamoto et al. (2004) в своих исследованиях указывают на то, что токсичность наночастиц определяется не только их размером, но и формой. Наночастицы дендрической и веретенообразной формы обладают более высокой цитотоксичностью нежели частицы сферической формы [10].

В ряде исследований имеются данные об изучении цитотоксичности наночастиц оксида цинка (71 нм) в опытах *in vitro* на культурах клеток бронхоальвеолярной карциномы человека. Полученные результаты продемонстрировали снижение жизнеспособности клеток и наличие дозозависимого эффекта при концентрации 10—14 мкг/мл в течение 24 ч. Количественными индикаторами оксидативного стресса и цитотоксичности являлись уровень глутатиона, малонового диальдегида и лактатдегидрогеназы. При проведении электрофореза одиночных клеток в геле была установлена способность наночастиц оксида цинка вызывать повреждение ДНК [8].

Изучение токсичности наночастиц золота проводили на эмбрионах гиреллы полосатой, подвергнутой экспозиции в течение 5 дней. Было установлено, что наночастицы золота размером 1,5 нм вызывают гибель эмбрионов в концентрации 10 ppm, а размером 0,8 нм — в концентрации 400 ppb. Достоверно выраженный тератогенный эффект проявляется при концентрации наночастиц золота 50 ppm, вне зависимости от их размера [3].

Цитотоксичность наночастиц диоксида кремния размером 15 и 46 нм изучалась в опытах *in vitro* на культуре клеток бронхоальвеолярной карциномы человека. Анализ результатов экспозиции наночастицами диоксида кремния в дозе 10 и 100 мкг/мл в течение 48 ч показал наличие явного дозозависимого цитотоксического эффекта и оксидативного стресса [8].

При изучении токсичности наночастиц алюминия (размером 10 нм) в опытах *in vivo* в концентрациях 10—100 мкг/мл была установлена способность изучаемых наночастиц подавлять синтез м-РНК, вызывать пролиферацию

эндотелиальных клеток, выступать в качестве индуктора проатерогенного воспаления и молекулярного модулятора на уровне РНК к ДНК путем подавления или экспрессии определенных генов [8].

Частицы органических конденсатов, образующиеся в результате неполного сгорания топлива или масла (дизельные двигатели) также могут быть отнесены к наночастицам. Имеется небольшое количество экспериментальных данных по изучению ингаляционной и иммунной токсичности масляных наночастиц (размером 20 нм) на крысах в течение 7 дней, по 6 ч в день в концентрации 300 мкг/мл (~106 частиц/см³). У экспериментальных животных было обнаружено достоверное изменение пролиферации Т- и В-лимфоцитов [8].

Из наночастиц углерода, наиболее изученными являются нано- (ультрадисперсные) алмазы (УДА). Наноалмазы не обладают канцерогенными или мутагенными свойствами, не токсичны, но при этом проявляют очень высокую активность по отношению к патогенным вирусам, микробам и бактериям, интенсивно поглощая их благодаря высокой адсорбционной способности и иным специфическим свойствам, а также являются сверхактивными сорбентами, иммобилизаторами биологически активных веществ, способны резко усиливать действие лекарственных препаратов [9].

В ряде исследований по изучению токсичности фуллеренов (нано-С60) в опытах *in vitro* на человеческих дермальных фибробластах и на эпителиальных легочных клетках была установлена достаточно высокая степень цитотоксичности для этих соединений [12, 14]. Однако опыты, проведенные *in vivo* на крысах в дозах от 1,5 до 3,0 мг/кг, показали лишь достоверное увеличение перекисного окисления липидов, все остальные индикаторы клеточного воспаления в легких не превышали нормальных значений [15, 16, 17].

В процессе образования фуллеренов из графита образуются также структуры, составленные, как и в случае графита, из шестичленных колец углерода. Эти структуры являются замкнутыми и полыми внутри. Среди них выделяются наночастицы и нанотрубки [18, 19]. Было обнаружено, что при интратрахеальном введении образца углеродных нанотрубок, содержащих никель (25,99%) и йод (5,01%) в дозе 1 мг/кг, никаких клинических изменений у животных обнаружено не было. При введении этих же образцов веществ в дозе 5 мг/кг, наблюдалась 50% гибель животных на 7 день и 60% гибель — на 90 день. Клиника отравления характеризовалась вялостью, потерей массы тела. У некоторых животных потеря массы тела достигала 27% с последующим восстановлением через неделю [2, 11].

В легочной ткани у всех животных, подвергшихся экспозиции в дозе 5 мг/кг, при некропии на 90 день были обнаружены широко распространенные равномерные вкрапления частиц черного цвета. Наблюдалось генерализованное поражение легких, в ряде случаев с некрозом, явлениями интерстициального и перибронхиального воспаления с вовлечением в воспалительный процесс альвеол. В легочной ткани животных, погибших на 7 и 90 день, отмечалась агрегация частиц черного цвета на макрофагах в альвеолярном пространстве, были также обнаружены формирующиеся гранулемы. Большинство микроскопических гранул локализовалось под эпителием бронхов, а некоторые — на бронхах в виде полипов. Гранулемы представляли из себя конгломерат макрофагов, нагруженных черными частицами, с небольшим количеством лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и других воспалительных клеток [13].

При исследовании токсичности углеродных нанотрубок, содержащих железо (26,9%), в дозе 5 мг/кг случаев летальности среди животных не отмечалось, наблюдались средней степени выраженности вялость, гипотермия, тремор при прикосновении, пилоэрекция, которые наиболее ярко проявлялись через 8—12 ч после экспозиции с последующим исчезновением симптоматики. В легочной ткани у животных при некропии были обнаружены гранулемы.

Одностенные углеродные нанотрубки, являющиеся более мягкими и эластичными, способны образовывать конгломераты, тогда как многостенные углеродные нанотрубки не способны к конгломерации, более ригидны.

Таким образом, вызываемые углеродными нанотрубками эффекты определяются наноразмерами и большой площадью поверхности, что повышает их реактивную способность. Углеродные нанотрубки также обладающие высокой биоперсистентностью (биоустойчивостью) вызывают воспаление, фиброзные изменения в легочной ткани, развитие гранулем и ряд других эффектов [11].

На основании проведенных исследований можно сделать вывод о том, что наночастицы обладают более высокой токсичностью, чем обычные микрочастицы, способны проникать в неизменном виде через клеточные барьеры, а также через гематоэнцефалический барьер в центральную нервную систему, циркулировать и накапливаться в органах и тканях, вызывая более выраженные патоморфологические поражения внутренних органов (например, образование гранулем в легких, цирроз печени, гломерулонефроз), а также, обладая длительным периодом полувыведения, крайне тяжело выводятся из организма. Токсичность наночастиц

определяется их формой и размерами, при этом мельчайшие наночастицы веретенообразной формы вызывают более разрушительные эффекты в организме, нежели подобные им частицы сферической формы. При воздействии наночастиц на организм отчетливо прослеживается зависимость «доза-эффект». Клинические проявления определяются содержанием того или иного химического элемента в составе каждой конкретной наночастицы, однако при этом наблюдается значительное усиление токсического эффекта [11].

Органами-мишенями для наночастиц являются легкие, печень, почки, головной мозг, желудочно-кишечный тракт. Прослеживается зависимость органов-мишеней от пути поступления. При воздействии наночастиц на организм человека возможно развитие оксидативного стресса, ингаляционной/трансдермальной ассимиляции (накопление и усвоение), астмы, хронических обструктивных болезней легких (ХОБЛ), злокачественных новообразований (рак легких), нейродегенеративных заболеваний, нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы и сердечной деятельности, нарушение генома клетки (репликации ДНК).

Заключение. Учитывая вышеизложенное, следует отметить актуальность исследования токсичности и опасности наночастиц при различных путях поступления в организм, оценки степени потенциального вреда здоровью населения и персонала, расчета рисков для населения и персонала, гигиенического нормирования наночастиц в воздухе рабочей зоны и объектах окружающей среды, разработки физико-химических методов анализа наночастиц в воздухе рабочей зоны и объектах окружающей среды, изучения процессов биопревращения и биоразложения наночастиц, доклинических и клинических испытаний лекарственных средств, разработанных на основе нанотехнологий.

Не вызывает сомнений, что реализация перечисленных направлений исследований и мероприятий по созданию системы безопасности при контакте человека с наноматериалами должны предшествовать широкому внедрению нанотехнологий в производство.

Список литературы

1. **Chen Z., Meng H., Xing G. et al.** *Acute toxicological affects of copper nanoparticles in vivo // The journal of physical chemistry. Toxicology letters, 2006. — 163. — 109—120.*
2. **Chiu - Wing Lam, James John T, McCluskey R. et al.** *Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation // Toxicol. Science. — 77. — 126 — 134.*

3. **Hoet P.M., Bruske-Hohlfeld I., Salata O.V.** *Nanoparticles — known and unknown health risks // Journal of Nanobiotechnology, 2004. — 2:12.*
4. **Jarkov S.M., Titarenko Ya.N., Churilov G.N.** *Electron microscopy studies off FCC carbon particles // Carbon, 1998. — V. 36. № 5—6. — P. 595-597.*
5. **Kagan V.E., Bayir H. Shvedova A.A.** *Nanomedicing and nanotoxicology: two sides of the same coin // Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine, 2005. — 1. — 313—316.*
6. **Oberdorster G., Oberdorster E., Oberdorster J.** *Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles // Environmental Health Perspectives, 2005. — 7 (113.). — 823—839.*
7. **Reis C.P., Neufeld R.I., Ribeiro A.J. et al.** *Nanoencapsulation II. Biomedical applications and current status of peptide and protein nanoparticulate delivery systems // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2006. — 2. — 53—65.*
8. **Sahoo S.K., Parveen S., Panda J.J.** *The present and future of nanotechnology in human health care // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2007. — 3. — 20—31.*
9. **Schrand A.M., Huang H., Carlson C. et al.** *Are Diamond Nanoparticles Cytotoxic ? // The journal of physical chemistry. Toxicology letters, 2007. — 111. — 2—7.*
10. **Wang J., Zhou G., Chan C. et al.** *Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration // The journal of physical chemistry. Toxicology letters, 2007. — 168. — 176—185.*
11. **Warheit D.B., Laurence B.R., Reed K.L. et al.** *Comparative pulmonary assessment of single-wall carbon nanotubes in rats // Toxicol. Science. — 77. — 117—125.*
12. **Елецкий А.В., Смирнов Б.М.** *Фуллерены и структуры углерода // УФН, 1995. — Т. 165 (9). — С. 977.*
13. **Елецкий А.В.** *Углеродные нанотрубки // УФН, 1997. — Т. 167(9). — С. 945.*
14. **Лозовик Ю.В., Попов А.М.** *Образование и рост углеродных наноструктур — фуллеренов, наночастиц, нанотрубок и конусов // УФН, 1997. — Т 167(7). — С. 151.*
15. **Образцова И.И., Еременко А.Н.** // *ЖПХ, 2003. — Т. 76. — Вып. 3. — С. 443-445.*
16. **Пиотровский Л.Б., Кузнецов В.Б.** *Фуллерены: фотодинамические процессы и новые подходы к медицине. СПб.: Роза мира, 2005. — 139 с.*
17. **Смоли Р.Е.** *Открывая фуллерены // УФН, 1998. — Т 168(3). — С. 323.*
18. **Соколов В.И., Станкевич И.В.** *Фуллерены новые аллотропные формы углерода: структура, электронное строение и химические свойства // Успехи химии, 1993. — Т 62(5). — С. 455.*

19. **Чурилов Г.Н.** Обзор методов получения фуллеренов // *Материалы 2 межрегиональной конференции с международным участием «Ультрадисперсные порошки, наноструктуры,*

материалы». – Красноярск: КГТУ, 1999. — С. 77-87.

Материал поступил в редакцию 14.08.07.

A.V.Glushkova, A.S.Radilov, V.R.Rembovskiy

NANOTECHNOLOGIES AND NANOTOXICOLOGY – VIEW OF THE PROBLEM

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, St. –Petersburg

The analysis of literature data showed that nanoparticles have a higher toxicity as compared to traditional microparticles, are capable to penetrate unchanged through cellular membranes and blood-brain barrier as well into the central nervous system, to circulate and accumulate in organs and tissues, causing a more expressive pathomorphological lesion of internal organs they have a long period of half-life. Toxicity of nanoparticles is determined by their shape and size, the smallest spindle-shaped nanoparticles producing more destructive effects on the organism than the similar ones of spherical form. Exposure of the organism distinctly shows a «dose-effect» dependence. Classical target organs are lungs, liver, kidneys, brain, gastrointestinal tract.