

**ПРОИЗВОДСТВО И ПРИМЕНЕНИЕ НАНОМАТЕРИАЛОВ
(ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ)**

Филатов Б.Н., Бочарова Л.И., Клаучек В.В., Масленников А.А., Почепцов А.Я.,
Точилкина Л.П.

*Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский
институт гигиены, токсикологии и профпатологии»*

Федерального медико-биологического агентства

400048, г. Волгоград, ул. Землячки, 12.

Тел.: 8 903 371 4888; e-mail: filatov@rihtop.ru

Резюме: В статье авторами представлено собственное видение потенциальных проблем для здоровья населения, связанных с развитием производства и внедрением в народное хозяйство материалов, создаваемых на основе нанотехнологий. Обоснована необходимость и проанализирована чрезвычайная сложность гигиенического регламентирования наночастиц в производственной и окружающей среде, а также в готовой продукции.

Ключевые слова: нанотехнологии, наноматериалы, наночастицы, здоровье населения, вредное действие, гигиеническое регламентирование.

**PRODUCTION AND USE OF NANOMATERIALS
(TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC PROBLEMS)**

Filatov B.N., Klauchek V.V., Tochilkina L.P., Pocheptsov A. Ya., Bocharova L.I.

Federal State Unitary Enterprise

«Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology»

at Federal Medical and Biological Agency

Tel.: +7 903 371 4888; e-mail: filatov@rihtop.ru

Abstract: In this paper authors presented their own vision of potential problems for public health related to production and implementation into economics of materials created on the basis of nanotechnology. The need and extreme complexity was justified of hygienic regulation of nanoparticles at production site and in environment as well as in final products.

Key words: nanotechnologies, nanomaterials, nanoparticles, public health, harmful effect, hygienic regulation.

Прорыв в области нанотехнологий служит мощной основой для качественного преобразования различных отраслей экономики. Переход в область наночастиц придает наноматериалам уникальные свойства, которые определяют возможность получения принципиально новых изделий в медицине, микроэлектронике, энергетике, строительстве, химической, парфюмерно-косметической и особенно в оборонной промышленности. Как и вообще при внедрении новой технологии, крайне необходимо, чтобы этот процесс внедрения нанотехнологий активно продвигался, не препятствуя развитию бизнеса. Очевидно, что ни один регулирующий орган не имеет намерений ограничить экономическое развитие, но в то же время существует необходимость обеспечения общественной безопасности. Люди уже подвергаются воздействию ряда искусственных наночастиц в процессе производства наноматериалов; также имеются основания полагать, что воздействие может осуществляться при загрязнении наночастицами объектов окружающей среды и при использовании наноматериалов в быту и в процессе медицинских манипуляций. Кроме того, нельзя забывать, что обратной стороной этого прогресса может быть применение достижений нанотехнологий в криминальных целях.

В условиях активного продвижения нанотехнологий и нанопродукции в жизнь токсикологи поставлены перед чрезвычайно сложной проблемой идентификации вероятных рисков её использования. К сожалению в настоящее время наших знаний о воздействии наночастиц и, соответственно, наноматериалов на здоровье человека недостаточно. В данной статье предпринята попытка перечислить, а в ряде случаев и предсказать, основные опасности для здоровья человека внедрения достижений в области нанотехнологий.

Токсикологические исследования на животных демонстрируют возможность неблагоприятного воздействия наночастиц, обусловленного окислительным стрессом. Однако дозы, необходимые для проявления подобных эффектов, часто относительно высоки и пока не ясно, возможно ли осуществление подобного воздействия на рабочем месте, и тем более в связи с загрязнением окружающей среды.

Тем не менее, наноматериалы, как и любой новый химический продукт, необходимо оценивать с точки зрения их безопасности для производственного персонала, окружающей среды и здоровья населения при его использовании. Только после завершения процесса оценки риска вредного воздействия наночастиц или наноматериалов на биологические объекты могут быть приняты решения по управлению риском

применительно ко всему жизненному циклу нанопродукции (производство, использование, уничтожение).

Процесс оценки риска наноматериала методически и технически существенно сложнее общепринятого процесса гигиенического регламентирования допустимого содержания химических веществ в производственной и окружающих средах, а также в готовой продукции.

Проблемы при гигиеническом регламентировании допустимой концентрации наночастиц в любой среде в отличие от обычных химических веществ начинаются с обоснования объекта исследований: выбор размеров, формы и физического состояния наночастиц. Во всех объектах будут присутствовать наночастицы всех размеров (от 1 до 100 нм), но в разных концентрациях. Учитывая, что в большинстве случаев токсичность и ее проявления для частиц разного размера может существенно различаться, возникает особая сложность оценки риска вредного воздействия наночастиц. Эта ситуация напоминает историю разработки методологии гигиенического регламентирования и оценки риска для здоровья населения при загрязнении объектов производственной и окружающих сред диоксинами и его наиболее токсичными аналогами. В случае с диоксинами и его аналогами ученые столкнулись с потребностью оценки риска для здоровья в связи с воздействием веществ, находящихся в каждой конкретной среде в форме сотен изомеров разной дисперсности и степени токсичности. Потребовалось больше десятилетия усилий ученых мирового сообщества для разработки методологии оценки угрозы диоксинового воздействия для здоровья населения. Однако в случае с диоксинами и его аналогами мы имеем дело с веществами сходной структуры и, соответственно, обладающими сходным механизмом действия и одинаковыми клиническими проявлениями как при остром, так и при хроническом воздействии.

С наночастицами все сложнее. Здесь мы *пока* имеем представителей двух классов (углеродные соединения и металлы). Роднит их лишь наличие хотя бы одного наноразмера. Если диоксин представлен двумястами возможными изомерами, то структура и форма наночастиц любого металла или углеродных производных более разнообразна. При этом необходимо учитывать и часто наблюдаемую агрегацию и агломерацию. Какие токсические проявления ожидать от этих различий? Загадка. Более того, с переходом к наноформе появляются новые физические и химические свойства, которые собственно и представляют основной интерес для практики. А вот в том, что с приобретением этих свойств не возникнут биологические проявления воздействия

наночастиц на организм человека, отличающиеся от известных проявлений вредного действия макроформы вещества, внедряемого в производство, уверенности быть не может.

Судя по тому, что на фоне бурного развития нанотехнологий сравнительно мало медико-биологических исследований, складывается впечатление, что большинство разработчиков этого направления вообще не признает возможной опасности наночастиц. Правда, в последние годы все же отмечается озабоченность возможным повышением токсичности с переходом на наноуровень.

Развитие любой новой технологии уже на стадии лабораторной установки должно всесторонне оцениваться с позиций безопасности для персонала, окружающей среды и потребителей. Трудности существуют как методологического, так и технического характера. Наиболее важными из них являются:

- сложности измерения полученной дозы;
- отсутствие данных о качественной и количественной идентичности проявлений токсичности наночастиц разной формы и размеров;
- низкая воспроизводимость результатов, полученных в разных лабораториях;
- сложность экстраполяции данных, полученных *in vitro*;
- необходимость оснащения лабораторий принципиально новым дорогостоящим и сложным оборудованием.

В отдельных публикациях о проведенных токсикологических исследованиях на лабораторных животных подтверждено вредное респираторное воздействие наночастиц. Эти данные должны вызывать обеспокоенность отсутствием адекватных методов измерений искусственных наночастиц в воздухе рабочей зоны атмосферном воздухе. Проблема касается прежде всего измерений концентраций наночастиц в анализируемых объектах, их дисперсной характеристики и формы. Предлагаемые методы анализа, как правило требуют оснащения органов санитарного надзора принципиально новым очень дорогим оборудованием, которое однако не дает необходимой информации о характере и степени загрязнения анализируемых объектов. Отсутствие методов санитарного контроля следует рассматривать как потенциальную угрозу для здоровья производственного персонала и населения.

Аналогичная ситуация наблюдается и с анализом загрязнения искусственными наночастицами природных вод и систем питьевого водоснабжения. Отсутствие соответствующих гигиенических регламентов и технологий для очистки сточных вод от наночастиц создает предположение о возможном загрязнении ими природных источников водопотребления.

В связи с указанными сложностями проведенные исследования в области разработки гигиенических регламентов безопасности наночастиц или нанопродуктов для производственной и окружающей среды или самой производимой продукции в большинстве своем вряд ли можно считать полноценными.

В настоящее время большинство сообщения о токсических эффектах наночастиц посвящено изучению их респираторного воздействия на грызунах. Во многих исследованиях на грызунах для доставки материала непосредственно в легкие применялось интратрахеальное введение наноматериала. Применение этого метода введения вещества в настоящее время представляется вполне обоснованным. Преимуществом этого пути введения является доставка конкретной дозы тестируемого материала непосредственно в верхние дыхательные пути, при том что камеры для ингаляционных исследований, приемлемые для анализа наночастиц, появились в последние годы и их эффективное применение также затрудняется методическими и техническими сложностями контроля. Недостатком интратрахеального метода введения является то, что он недостаточно адекватен естественной ингаляции наночастиц в легкие человека.

Анализ данных литературы позволяет предполагать, что возможные изменения острой токсичности при переходе к наноформе не превысят одного порядка. Наибольшую вероятность составляет появление у наночастиц специфической токсичности, в частности, развитие нарушений репродуктивной функции. При этом получаемые данные весьма разноречивы. Так по данным Handy R.D., Shaw B.J. [1], объектом экспериментальных исследований которых служили образцы гидрозолей золота и серебра, синтезированных в ИБФРМ РАН, длительное пероральное воздействие наносоединений золота и серебра на самок белых крыс не сопровождалось развитием гонадотоксического эффекта. Исходя из результатов наших аутометаллографических исследований, гематофолликулярный барьер для наночастиц золота, видимо, непроницаем. В то же время при длительном введении самкам зарегистрировано накопление нанозолота в ряде образований ретикуло-эндотелиальной системы. При

введении нанозолота беременным самкам также обнаружено проникновение наночастиц в фетальные ткани, в частности, в печень плода.

Следует отметить, что вопрос о способности наночастиц золота преодолевать плацентарный барьер расценивается в литературе как спорный: наряду с исследованиями, результаты которых подтверждают возможность пенетрации наночастиц золота через плаценту [2,3], опубликованы данные, где проницаемость плацентарного барьера для наночастиц отрицается [4,5]. Установленный факт наличия нанозолота в печени плода при отсутствии их в плаценте, заставляет рассмотреть и такие возможности, как их миграция в зародышевые ткани на более раннем этапе (при закладке эмбриона и начальных стадиях формирования плаценты), или существование параплацентарных путей проникновения этих частиц в организм плода.

Установленный факт аккумуляции наночастиц золота в тканях ретикулоэндотелиальной системы взрослых самок и в печени плодов ставит на повестку дня вопрос, приводит ли их присутствие к каким-либо нарушениям гомеостаза – как в окончательно сформировавшемся организме, так и находящемся на этапе своего внутриутробного развития.

Проведённое обследование показало, что трёхнедельное введение наночастиц беременным самкам не вызывало нарушений внутриутробного развития их потомства. Микроанатомическими методами исследования не удалось выявить грубых нарушений эмбриогенеза в виде повышения антенатальной гибели, анатомических пороков или общего торможения физического развития на организменном уровне.

Наночастицы золота не оказывали влияния на постнатальную смертность потомства. Основные признаки прогрессирующего морфологического созревания, сенсорные функции (слух, зрение, обоняние) и способность к локомоторной координации у крысят этой группы и контрольной формировались синхронно. Поэтому несколько неожиданными оказались данные, полученные при обследовании 30-дневного потомства, когда при тотальной регистрации массы тела было обнаружено торможение её прироста. При выборочном исследовании эмоционально-двигательного поведения были выявлены изменения спонтанной двигательной активности.

По достижении потомством возраста репродуктивной зрелости нарушения биохимического гомеостаза у подопытных животных проявились __повышением содержания пировиноградной кислоты. Сдвиги со стороны гематологических показателей свидетельствовали о серьёзном угнетении красного ростка кроветворения.

Отличный от контроля поведенческий паттерн потомства крыс, подвергшихся воздействию наночастиц золота, продемонстрировало и в этом возрасте. При наличии развитой способности к тонкой координации движений отмечено достоверное снижение суммарного числа элементарных актов поведения - преимущественно за счёт подавления горизонтального компонента спонтанной двигательной активности.

Комплексная оценка изменений, выявленных в функциональной системе «мать-плод» при воздействии наночастиц золота, убеждает в том, что «носительство» наночастиц может носить бессимптомный характер только до определённого времени. Так, проникновение наночастиц золота к плоду на антенатальной стадии не имело значимых проявлений: эмбриолетальный эффект отсутствовал, анатомические пороки не возникали, депрессии общего развития плодов не наблюдали. Девиации развития у потомства впервые обнаруживались в конце первого месяца жизни и к моменту достижения возраста репродуктивной зрелости не исчезали. Такая динамика сдвигов позволяет заключить, что прямой контакт наночастиц золота с эмбриональными тканями способен привести к формированию дефектов, проявляющихся после большого латентного периода и затем приобретающих характер длительно персистирующей патологии. Является ли такая закономерность характерной для наноматериалов вообще или она может быть ограничено экстраполирована только на ауронанопroduкцию (или даже только на наночастицы золота сферической формы различных диаметров) – вопрос, заслуживающий дальнейшего тщательного и всестороннего экспериментального изучения.

Нами изучено влияние не только на репродуктивную функцию самок крыс, но и на гонады самцов, в которых обнаружены существенные изменения. При оценке последствий воздействия на самцов нанозолота руководствовались положением о внешне- и внутрисекреторной функции семенников. Комплексную характеристику функционирования половых желез самцов оценивали по состоянию генеративного эпителия семенников и функциональной активности гамет, полового поведения, являющееся отражением нейрогуморальной регуляции в системе “гипоталамус-аденогипофиз-семенники”, способности самцов к оплодотворению. В результате установлено, что нанозолото оказывает негативное влияние на репродуктивную функцию самцов лабораторных животных. Зарегистрированные отклонения (тератозооспермия, агглютинация сперматозоидов и сниженная способность к оплодотворению) не являются следствием нарушения гормонального статуса поскольку способность животных к

спариванию не была изменена. В этой связи представляется очевидным факт наличия у оцениваемых соединений цитотоксических свойств. Результаты автometаллографических исследований свидетельствуют, что препарат нанозолота не проникает в сами семенники. В то же время нельзя исключить их попадания и возможного накопления в хвостовой части придатков гонад, содержащих зрелые половые клетки. По всей видимости, попадая в придатки, вещество оказывало негативное влияние на гаметы, изменяя их морфологию и вызывая агглютинацию, что в дальнейшем естественным образом сказывалось на способности самцов к полноценному оплодотворению.

Результаты настоящей работы свидетельствуют о наличии у наночастиц золота (сферическая форма, размер 5 нм) специфических видов токсичности.

Выполненные нами аналогичные токсикологические исследования, проведенные с наночастицами серебра, диоксида титана и диоксида церия, подтверждают необходимость проведения гигиенического регламентирования использования наночастиц для производства наноматериалов.

Литература

1. Handy R.D., Shaw B.J. Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health, Risk & Society*. 2007; 9:125-44.
2. Takahashi, S. Cross placental transfer of ^{198}Au -colloid in near term rats / S. Takahashi, O. Matsuoka // *J. Radiat Res.* - 1981. - № 22. - P.242-249.
3. Biodistribution of 1.4- and 18-nm gold particles in rats / M. Semmler-Behnke [et al.] // *Small*. - 2008. - №4. – P. 2108–2111.
4. Kinetics of gold nanoparticles in the human placenta / P. K. Myllynen [et al.] // *Reproductive Toxicology*. - 2008. - №26.- P.130–137.
5. Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism /E. Sadauskas [et al.] // *Part Fibre Toxicol.* - 2007. - №4. – P.10.