

также следовало бы начать с изучения токсикокинетики наночастиц на таких биообъектах.

ГЕНОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОМАТЕРИАЛОВ

Сычева Л.П.

ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина
РАМН, Москва

Наноматериалы (НМ) активно внедряются в нашу жизнь. Особого внимания заслуживают новые, сконструированные НМ: фуллерены, углеродные нанотрубки, квантовые точки, наночастицы. Существуют и природные вещества, которые изучались токсикологами, но только в настоящее время отнесены к НМ. Подобно новым химическим соединениям НМ должны пройти оценку генетической безопасности. Проблема заключается в том, какие методы использовать для оценки генотоксических свойств НМ? Какие данные указывают на генотоксическую активность НМ? Какие особенности НМ следует учесть при изучении генотоксической активности НМ? Какие подходы (одинаковые или отличающиеся) применять при тестировании НМ разного типа? Достаточны ли существующие общепринятые в мире и России батареи тестов для выявления генотоксических свойств НМ?

НМ характеризуются особенностями, позволяющими предположить их генотоксическое действие: высокой проницаемостью на организменном, органном, тканевом и клеточном уровнях; индукцией свободных радикалов, в том числе активных форм кислорода и азота (Gurt J.R. et al., 2005; Wang L. et al., 2007; Parageorgiou I. et al., 2007); повреждением цитоскелета (Jin S. et al., 2007); способностью некоторых НМ преодолевать кариолемму и располагаться в ядре клетки (Lovric J. et al., 2005); конъюгацией с ДНК (Dubertret et al., 2002); составом некоторых НМ, включающих атомы химических соединений, обладающих канцерогенным действием, например, кадмия или мышьяка (Hardman, 2005); сходством в строении некоторых НМ с волокнами асбеста

(Oberdoster G., et al., 2005), который обладает генотоксическим и канцерогенным действием (IARC Monographs, 1977).

Генотоксические свойства НМ изучены в нескольких исследованиях *in vitro*. ДНК-повреждения выявлены методом Comet при оценке действия наночастиц кобальт-хромового сплава на культивируемые фибробласты человека (Parageorgiou I. et al., 2007); ультратонких (менее 100 нм в диаметре) TiO₂-наночастиц на лимфоциты человека (Wang J.J. et al., 2007); покрытых церием TiO₂-наночастиц, активируемых видимым светом, на клетки гепатомы человека Bel7402 (Wang L. et al., 2007); TiO₂-наночастиц размером 10-20 нм без фотоактивации на бронхиальные эпителиоциты человека BEAS-2B (Gurt J.R. et al., 2005). Наночастицы реалгары повышали ДНК-фрагментацию и апоптоз в клетках U937 (Wang X.B. et al., 2007). Наночастицы читосана (65 нм) в концентрациях 25-100 мкг/л индуцировали ДНК-фрагментацию и апоптоз в клетках карциномы желудка человека MGC803 (Qi LF et al., 2005).

В то же время, генераторы рентгеновских лучей нового типа, в которых используются углеродные нанотрубки, оказались одинаковыми по эффективности индукции ДНК-повреждений (двойных разрывов) в клетках лимфомы мышей *in vitro*, по сравнению с ранее применявшимися генераторами термионного типа (Narazato T. et al., 2007). Люминесцентные кремниевые наночастицы не вызывали модификацию оснований ДНК, разрывы ДНК, повышенную репарационную активность клеток в культуре при концентрации менее 100 мкг/мл (Jin Y. et al., 2007).

Повышение уровня хромосомных aberrаций показано в опытах по оценке действия наночастиц оксида цинка (средний размер - 100 нм). Этот ингредиент широко используется в дерматологических препаратах и средствах УФ-защиты. Препарат индуцировал хромосомные aberrации при обработке культуры клеток китайского хомячка CHO в трех вариантах: в темноте, в условиях предобработки УФ-светом с последующим действием оксида цинка и при одновременном действии оксида цинка и УФ-облучения. В двух последних вариантах опыта значимый эффект выявлен при более низких концентрациях

оксида цинка (Dufour E.K. et al., 2006). Отрицательный эффект получен в опыте по анализу хромосомных aberrаций в культуре клеток китайского хомячка CHO при действии ультратонких частиц TiO₂ (Warheit D.B. et al., 2007).

Образование микроядер отмечено в исследованиях *in vitro* при действии наночастиц диоксида титана: покрытых церием TiO₂-наночастиц, активируемых видимым светом на клетки гепатомы человека Bel7402 (Wang L. et al., 2007); TiO₂-наночастиц размером 10-20 нм на бронхиальные эпителиопиты человека BEAS-2B без фотоактивации (Gurr et al., 2005); ультратонких частиц TiO₂ (<100 нм в диаметре) на лимфобласты человека в культуре (Wang J.J. et al., 2007).

Анеуплоидия определена при изучении действия наночастиц кобальт-хромового сплава на клетки культуры фибробластов человека (Parageorgiou I. et al., 2007).

Ультратонкие частицы диоксида титана вызывали 2,5-кратное повышение частоты HPRT-мутаций при действии на культуру лимфобластов человека (Wang J.J. et al., 2007).

В настоящее время практически отсутствуют данные по оценке генотоксического действия НМ *in vivo*. В одном из опытов углеродные нанотрубки при интратрахеальной инстилляции вызывали повреждения митохондриальной ДНК в клетках аорты трансгенных AroE (-/-) мышей на 7, 28 и 60 день экспозиции. Считают, что с этим связано выявленное расширение зоны атеросклеротических бляшек в аорте. Следует обратить внимание на проявление эффекта в системе кровообращения при интратрахеальном введении препарата, что, по-видимому, связано с транслокацией этих частиц и прямым действием, вызывающим сердечно-сосудистую дисфункцию (Li Z. et al., 2007).

По мнению ряда авторов, генотоксическая активность НМ определяется их способностью индуцировать активные радикалы кислорода и азота, повреждающие ДНК (Gurr J.R. et al., 2005), а также высокой проникаемостью и

прямым действием на внутриклеточные структуры, в том числе нацитоскелет и хроматин (Jin S. et al., 2007).

Сравнение генотоксического эффекта нано- и микрочастиц одних и тех же соединений показывает, что первые обладают большей активностью (Parageorgiou I. et al., 2007).

Еще одной важной особенностью НМ, которую следует учитывать при оценке генотоксического действия, является их проникновение и, в ряде случаев, аккумуляция в разных органах: легких, сосудах, лимфатической ткани, костном мозге, печени, почках (Hardman R., 2006).

Анализ представленных работ показывает, что генотоксическая активность НМ почти не изучена. Приведенные данные получены на ограниченном количестве НМ и, в основном, в опытах *in vitro*. С другой стороны, даже это небольшое число работ указывает на способность НМ индуцировать ДНК-повреждения, хромосомные aberrации, микроядра, анеуплоидию. Недавно выявлены последствия генотоксического действия НМ: ультратонкие частицы диоксида титана (<100 нм в диаметре), вызывали фиброз и рак легкого у крыс (Wang J.J. et al., 2007).

Таким образом, есть основания опасаться генотоксического действия НМ на организм человека и тяжелых последствий этого, в первую очередь канцерогенного эффекта. Можно предполагать, что НМ будут более активны при действии на генетический аппарат клеток по сравнению с микрочастицами. Следовательно, насущной необходимостью является создание системы оценки генетической безопасности НМ, основой которой может быть общепринятый подход к оценке мутагенных свойств химических соединений, наиболее детально разработанный для лекарственных препаратов (Руководство под ред. Хабриева Р.У., 2005). Система должна быть дополнена тестами *in vivo* для анализа органной специфичности генотоксического действия НМ. В свете представленных данных высокоинформативным может оказаться разработанный в Институте полиорганической химии микроядерный тест с учетом

показателей пролиферации и апоптоза. В настоящее время важно начать комплексную оценку генетической безопасности НМ разного типа.

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС, ОТРАЖАЮЩИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ ВВЕДЕНИИ НАНОПОРОШКА Fe_3O_4

Мильто И.В.¹, Шарыпова Н.Г.¹, Мальцева И.В.¹, Магаева А.А.², Нилгриб
Банерджи³, Сазонов А.Э.¹

¹Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск,

²Отдел структурной макрокинетики ТНЦ СО РАН,

³Кафедра органической химии и органического синтеза, Томский
политехнический университет

Внедрение новых технологий в медицину является одной из приоритетных задач экспериментальной биологии. Многие достигнутые успехи связаны с развитием и внедрением нанотехнологий. Интерес к наноматериалам связан с изменением ряда основных и появлением новых свойств у традиционных материалов, при их переходе в ультрадисперсное состояние. Медицинское и биологическое использование нанопорошков открывает широчайшие возможности в области создания новейших материалов, имплантатов, методов диагностики, фармпрепаратов, а также разработки средств селективной доставки лекарственных препаратов на основе наночастиц обладающих магнитными свойствами.

В данной работе был использован нанопорошок Fe_3O_4 , полученный механохимическим способом. Частицы порошка имеют сферическую форму и размеры 5-15 нм, что подтверждается данными электронной микроскопии.

Порошок вносили в стабилизирующий раствор, приготовленный на основе цитрата натрия с добавлением HEPES (pH=7,4). Полученный раствор обрабатывали ультразвуком для разрушения агломератов. После сонификации

производилось центрифугирование. Размер наночастиц в стабилизирующем растворе не превышает 21 нм (метод лазерной дифракции). Концентрация ионов Fe^{2+} в образце составляет $(4,8 \pm 1,2) \cdot 10^{-3}$ г/мл (атомно-эмиссионный спектральный анализ).

Исследование проводилось на 52 крысах самцах, из которых были сформированы 2 группы: опытная (32 крысы) и контрольная (20 крысы). Животным опытной группы внутрибрюшинно вводилось 5 мл раствора нанопорошка Fe_3O_4 (супернатанта). Животным из контрольной группы внутрибрюшинно вводилось 5 мл стабилизирующего раствора. Животные выводились из эксперимента поэтапно, путём декапитации через 1, 3, 7 и 12 суток после инъекции по 8 опытных и 5 контрольных. Активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, креатинфосфокиназы-МВ, щелочной фосфатазы, γ -глутамилтранспептидазы, α -амилазы и содержание глюкозы, общего билирубина, мочевины, креатинина в плазме крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе «НІТАСНІ 911».

Ниже, изменения биохимических показателей приведены по сравнению с таковыми у животных контрольной группы. Выявлено повышение активности: креатинфосфокиназы и креатинфосфокиназы-МВ на 1, 3, 7 и 12 сутки, аспаратаминотрансферазы на 1 сутки и α -амилазы на 1 сутки наблюдения. Зарегистрировано снижение активности: аланинаминотрансферазы на 1, 3, 7 и 12 сутки и щелочной фосфатазы на 1 сутки. Активность γ -глутамилтранспептидазы в сравниваемых группах существенно не отличается. Концентрация общего билирубина и мочевины была увеличена на 1, 3 и 7 сутки. Концентрация креатинина в плазме крови была увеличена на 1 сутки. Концентрация глюкозы существенно не отличается в сравниваемых группах.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при внутрибрюшинном введении крысам стандартизованного стабилизированного раствора нанопорошка Fe_3O_4 обнаружены обратимые изменения биохимических параметров плазмы крови, характеризующих состояния внутренних органов.