

УДК 615.9

# ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ «ИН ВИВО» С НЕКОТОРЫМИ МЕТАЛЛИЧЕСКИМИ И МЕТАЛЛО- ОКСИДНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ

Б.А. Кацнельсон<sup>1</sup>, Л.И. Привалова<sup>1</sup>,  
М.П. Сутункова<sup>1</sup>, В.Б. Гурвич<sup>1</sup>,  
И.А. Минигалиева<sup>1</sup>, Н.В. Логинова<sup>1</sup>,  
Е.П. Киреева<sup>1</sup>, В.Я. Шур<sup>2</sup>, Е.В. Шишкина<sup>2</sup>,  
Я.Б. Бейкин<sup>3</sup>, С.В. Пичугова<sup>3</sup>,  
О.Г. Макеев<sup>4</sup>, И.Е. Валамина<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ФБУН Екатеринбургский Медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

<sup>2</sup> Институт естествознания Уральского Федерального Университета, 620083, г. Екатеринбург, Российская Федерация

<sup>3</sup> Городской клинично-диагностический центр, 620142, г. Екатеринбург, Российская Федерация

<sup>4</sup> Уральский государственный медицинский университет, 620028, г. Екатеринбург, Российская Федерация

**В** статье обобщены основные результаты токсикологических экспериментов на крысах, проведенных авторами путём либо однократной интратрахеальной инстилляцией, либо повторных внутрибрюшинных введений наночастиц (НЧ) серебра, золота, оксидов железа, меди, никеля и марганца в стабильных водных суспензиях без каких-либо химических добавок. Найдено, что эти НЧ значительно более токсичны как на клеточном, так и на органо-системном уровне по сравнению со своими микрометровыми и даже субмикронными двойниками. Однако зависимость органо-системной токсичности от размера частиц внутри нанометрового диапазона является неоднозначной, завися от взаимно переплетенных и часто противоположно направленных соотношений между собственно биологической агрессивностью конкретных НЧ, с одной стороны, и сложными механизмами управления их токсикокинетикой, с другой. Наши данные свидетельствуют о высокой активности лёгочного фагоцитоза отложившихся в дыхательных путях НЧ, что указывает на принципиальную возможность безопасных уровней экспозиции к ним. Рассматривается подход к установлению временных нормативов такого воздействия, основанный на 10-15-кратном снижении величин, установленных для соответствующих микрометровых промышленных аэрозолей.

Найдено, что на фоне действия адекватно составленной комбинации некоторых биологически активных агентов (включая пектин, поливитамины-полиминеральные препараты, некоторые аминокислоты и НЭЖК класса омега-3) системная токсичность и генотоксичность металлосодержащих НЧ могут быть заметно ослаблены.

**Ключевые слова:** металлосодержащие наночастицы, токсичность, защита.

**Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich)**, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, bkaznelson@etel.ru

**Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna)**, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией научных основ биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, privalova@ymrc.ru

**Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna)**, к.м.н., заведующая лабораторией токсикологии внешней среды ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, marinasutunkova@yandex.ru

**Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich)**, д.м.н., директор ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, gurvich@ymrc.ru

**Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna)**, к.б.н., заведующая лабораторией промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, ilzira-minigalieva@yandex.ru

**Логинова Надежда Владимировна (Loginova Nadezda Vladimirovna)**, научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, tushkann@yandex.ru

**Киреева Екатерина Петровна (Kireyeva Ekaterina Petrovna)**, к.м.н., старший научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, katerinakir@yandex.ru

**Шур Владимир Яковлевич (Shur Vladimir Yakovlevich)**, д.ф.-м.н. проф., директор Центра коллективного пользования Института естествознания УрФУ «Современные нанотехнологии», г. Екатеринбург, vladimir.shur@usu.ru

**Шишкина Екатерина Владимировна (Shishkina Ekaterina Vladimirovna)**, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник Центра коллективного пользования Института естествознания УрФУ «Современные нанотехнологии», г. Екатеринбург, ekaterina.shishkina@labfer.usu.ru

**Бейкин Яков Борисович (Beikin Yakov Borisovich)**, д.м.н., проф., главный врач МУ «Клинично-диагностический центр», 620142, г. Екатеринбург, kdc\_boss@mail.ru

**Пичугова Светлана Владимировна (Pichugova Svetlana Vladimirovna)**, к.м.н., специалист по электронной микроскопии МУ «Клинично-диагностический центр», 620142, г. Екатеринбург, ekb-lem@mail.ru

**Макеев Олег Германович (Makeyev Oleg Hermanovich)**, д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярной генетики УГМУ, 620028, г. Екатеринбург, arim@mail.ru

**Валамина Ирина Евгеньевна (Valamina Irene Evgenyevna)**, к.м.н., ведущий научный сотрудник ЦНИЛ УГМУ, 620028, г. Екатеринбург, ivalamina@mail.ru

**Введение.** Наночастицы (НЧ) 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. Вместе с тем, в таких аэрозолях обычно присутствуют и химически идентичные или близкие микрометровые частицы (МЧ), включая субмикронные, но имеющие размеры  $>100$  нм, то есть не относящиеся к НЧ. Поэтому для металлосодержащих НЧ в большей мере, чем для многих других искусственных НЧ, практически необходимы обоснованные ответы на некоторые теоретические вопросы нанотоксикологии, а именно:

(1) Распознаются ли НЧ физиологическими защитными механизмами хуже, чем соответствующие МЧ?

(2) Являются ли НЧ более токсичными, чем МЧ?

(3) Имеется ли однозначная зависимость защитных и патологических реакций организма на действие НЧ от их размера в пределах условленного нанометрового диапазона и от химической природы нановещества?

(4) Существует ли принципиальная возможность защиты здоровья людей, имеющих дело с искусственными наноматериалами или со спонтанно образующимися НЧ, путём установления жёстких, но практически осуществимых стандартов допустимой экспозиции и/или путём повышения резистентности организма к вредному действию НЧ?

На протяжении 2009-2014 г.г. мы проводили исследования в поиске ответов на эти вопросы [1-10]. Надо отметить, что за последние примерно 10 лет многими другими исследователями также публиковались работы по экспериментальной токсикологии металлосодержащих НЧ. В качестве примера сошлёмся лишь на часть публикаций, посвящённых НЧ тех металлов, которые служили объектом и наших собственных работ: оксиды железа [11-20], серебро [21-45], золото [24,45-58], медь и её оксиды [43, 9-68], оксид никеля [65,69-73], оксиды марганца [74-76]. Однако в подавляющем большинстве этих исследований цитотоксичность и генотоксичность перечисленных НЧ оценивались на культурах стабильных клеточных линий и лишь изредко – на животных «ин виво». При всех несомненных преимуществах экспериментальной токсикологии «ин витро» (в особенности, для изучения первичных механизмов токсичности), любая экстраполяция

её результатов на организменный и даже на органо-системный уровень сопряжена с неопределённостями и допущениями. Более того, некоторые важнейшие аспекты токсикологии (в особенности, токсикокинетика и её механизмы, зависимости доза – системный ответ, функционирование и эффективность защитных механизмов) могут быть исследованы только в экспериментах на целостном организме лабораторных млекопитающих.

**Материалы и методы исследования.** В наших исследованиях использовались не коммерческие наноматериалы, а специально приготовленные (в основном, с помощью лазерной абляции сверхчистых металлических пластинок) водные суспензии перечисленных выше металлов и оксидов с хорошо охарактеризованными размерами и химическим составом сферических НЧ и МЧ.

Однократная интратрахеальная инстилляционная в лёгкие крыс 1 мл такой суспензии (содержащей обычно 0,2 мг вещества, но иногда в большей дозе) служила экспериментальной моделью для оценки особенностей реакции глубоких дыхательных путей на отложение в них частиц при естественной ингаляции (контрольным крысам вводился 1 мл той же стерильной деионизированной воды). Адекватность этой широко и давно используемой модели хорошо обоснована [77]. Та же самая экспериментальная техника давала при центрифугировании жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ) через 24 часа после инстилляционной, клеточный материал для оптической, просвечивающей электронной (ПЭМ) и полуконтактной атомно-силовой (пкАСМ) микроскопии с целью изучения фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов (АМ) и нейтрофильных лейкоцитов (НЛ), а также внутриклеточной локализации частиц и вызываемых ими ультраструктурных повреждений клетки. Полученные при этом результаты сопоставимы с данными исследований, проводимых «ин витро», но являются ценным дополнением к ним, поскольку взаимодействие между частицей и клеткой «ин виво» происходит в том микроокружении, которое не может быть полностью воспроизведено в клеточной культуре.

Сравнительная субхроническая токсичность различных НЧ и МЧ, которая в реальных условиях профессиональной экспозиции связана, главным образом, с ингаляционной экспозицией, моделировалась повторными внутрибрюшинными инъекциями тех же суспензий на протяжении 5-7 недель. Известно, что диффузионное отложение НЧ на всём протяжении дыхательных путей от носовых ходов до альвеол высоко эффективно [78]. Например, широко известная Human Respiratory Tract Model (HRTM) международной комиссии по радиационной защите (МКРЗ) [79,80]

прогнозирует 100%-ное общее отложение для сферических частиц диаметром 1 нм и ~ 90%-ное для частиц диаметром 10 нм. Однако многие анатомические и функциональные различия между дыхательными путями человека и грызунов заставляют предполагать существенные видовые особенности регионального отложения частиц и, тем самым, кинетики их транслокации из респираторного тракта в ЖКТ и пенетрации в кровотоки. Именно поэтому автор обстоятельного обзора нано-токсикологических методов исследования [81] отмечает, что грызуны, обычно используемые для токсикологического тестирования, не являются репрезентативной моделью для изучения ингаляционных экспозиций человека. Даже полагая, что эта крайняя точка зрения является слишком категоричной, и понимая необходимость и полезность ингаляционных экспериментов с НЧ-аэрозолями<sup>1</sup>, нельзя не признать, что интраперитонеальная модель позволяет обойти эти межвидовые различия. Она вполне адекватна для изучения кинетики распределения в организме, элиминации из него и токсикодинамики тех НЧ, которые пенетрировали в кровь из какого бы то ни было места их первичного отложения. К тому же, к её техническим достоинствам следует отнести точность дозировки – обстоятельство, особо важное для экспериментов сравнительного плана. Она используется в нано-токсикологических экспериментах не только нами [например, 82, 83].

В наших субхронических экспериментах вредные эффекты внутрибрюшинно вводившихся НЧ и МЧ (накопление которых измерялось в разных органах) оценивались с помощью широкого набора интегральных и специфических показателей функционального и биохимического характера и гистоморфологических исследований с морфометрией, а генотоксический эффект – по фрагментации ядерной ДНК в ПДАФ<sup>2</sup>-тесте.

Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития от 23.08.2010 N 708н).

**Результаты и обсуждение.** Ниже основные результаты наших исследований рассмотрены в свете тех вопросов, которые были поставлены во Введении.

*Распознаются ли НЧ физиологическими защитными механизмами хуже, чем соответствующие МЧ?* Практическая значимость этого вопроса едва ли может вызвать сомнения,

но всё же подчеркнём, что если эти механизмы защиты от НЧ малоэффективны, то безопасные уровни экспозиции к последним едва ли возможны в принципе. Между тем, в самом начале «нанотоксикологической эпохи» многими авторами [например, 84,85] предполагалось, что те защитные механизмы, которые дают животному организму возможность нормально существовать в земной атмосфере, неизбежно загрязненной взвешенными частицами широкого диапазона размеров и разного химического состава, по тем или иным причинам мало эффективны или вообще не эффективны по отношению к НЧ. В частности, утверждалось, что НЧ, отложившиеся в пульмонарной области респираторного тракта, не могут эффективно фагоцитироваться альвеолярными макрофагами (АМ) то ли потому, что эти клетки не способны распознать НЧ из-за их крайне малых размеров, то ли из-за неспособности самих НЧ генерировать хемотактический сигнал. Так, не только 10 лет тому назад авторитетная группа исследователей [85] утверждала, что «очень маленькие частицы не могут быть детектированы нормальными фагоцитарными механизмами защиты», но и всего 3 года т.н. автор обстоятельного обзора [86] не считал решённым вопрос о том, «узнаются ли наночастицы фагоцитами или пролетают под радаром и избегают иммунного распознавания».

Мы начали свою работу в этой сфере [1,2] не только с критического анализа тех экспериментальных данных, которые якобы подтверждали рассматриваемые утверждения, но и с выражения сомнений, основанных на эволюционных соображениях. Мы подчёркивали, что позвоночные животные суши начали ингалировать так называемые ультратонкие частицы нанометровых размеров (вулканическая зола, высохшие капельки диспергированной морской воды, дым лесных пожаров, сульфаты, образовавшиеся в атмосфере в результате окисления диоксида серы) тогда же, когда и микрометровые частицы пыли. Оба ключевых механизма самоочищения дыхательных путей от частиц (лёгочный фагоцитоз и мукоцилиарный транспорт) существуют уже у земноводных [87], то есть были выработаны эволюцией ещё до завершения морфологического структурирования лёгких. Было трудно понять, каким образом естественный отбор закрепил бы именно эти защитные механизмы, если бы они были неэффективными как раз против предположительно наиболее опасных мельчай-

<sup>1</sup> Такой долгосрочный эксперимент со строго регулируемой экспозицией большой группы крыс в ингаляционной установке типа «только нос» к НЧ оксида железа Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> проводится нами в настоящее время. Ясно однако, что подобные эксперименты ввиду их технической сложности и высокой стоимости реально могут проводиться только в исключительных случаях для решения таких специальных задач, которые не могут получить адекватного решения на интратрахеальной и внутрибрюшинной моделях.

<sup>2</sup> Полиморфизм Длин Амплифицированных Фрагментов

Таблица 1

**Число клеток в жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ) у крыс через 24 часа после интратрахеальной инстилляцией 0,2 мг nano- или микрочастиц серебра ( $x \pm sx$ )**

ВВЕДЕННОЕ ВЕЩЕСТВО	ЧИСЛО КЛЕТОК * 10 <sup>6</sup>			НЛ/АМ
	Всех клеток	Нейтрофильных лейкоцитов (НЛ)	Альвеолярных макрофагов (АМ)	
НЧ серебра (49 нм)	4,25±0,77°	2,99±0,71*°	1,16±0,14	2,47±0,33*°
МЧ серебра (1,1 мкм)	1,99±0,25	0,73±0,15*	1,24±0,19	0,66±0,13*
Вода без частиц	1,41±0,33	0,13±0,04	0,89±0,18	0,14±0,023

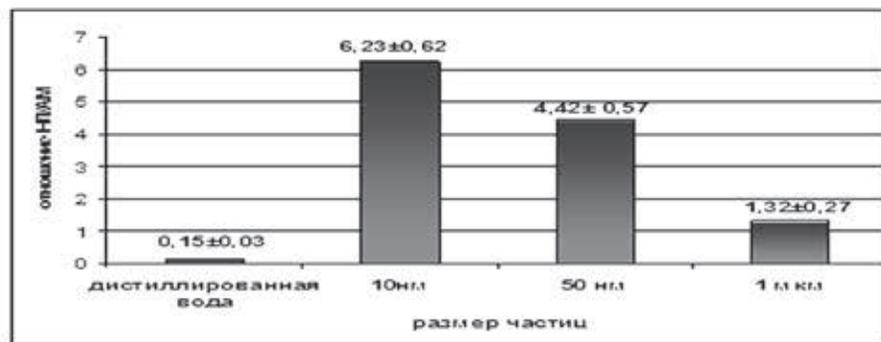
Статистически значимо отличается: \* от контрольной группы; ° от группы, получившей МЧ ( $P < 0.05$  по t Стьюдента).

ших частиц, загрязняющих атмосферный воздух.

Однако наши собственные данные свидетельствовали о том, что организм вовсе не беззащитен по отношению к металлсодержащим НЧ. В частности, в большом числе экспериментов мы нашли, что лёгочная фагоцитарная реакция на отложение таких НЧ является весьма выраженной, так что при равной дозе и той же химической идентичности увеличение клеточности БАЛЖ в ответ на отложение

НЧ гораздо выше, чем на отложение МЧ (пример дан табл.1). К тому же, этот сдвиг и, в особенности, увеличение числа нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) с увеличением численного отношения НЛ/АМ тем более выражены, чем мельче частицы в пределах нанометрового диапазона (рис. 1)

Такая мобилизация НЛ на свободную поверхность дыхательных путей в ответ на отложение в них любых частиц, в том числе, наноразмерных [например, 73, 88-92] нередко описывается как «воспаление», то есть рассматривается как патологический феномен, скорее чем защитный механизм. Мы полагаем, что такой взгляд может быть дезориентирующим. Вне всяких сомнений, эта мобилизация типична для острых и, в меньшей степени, хронических респираторных воспалений микробной или химической этиологии. Однако определённое число НЛ всегда присутствует в БАЛЖ даже молодых крыс, постоянно дышащих не отфильтрованным окружающим



**Рис. 1.** Отношение числа нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) к числу альвеолярных макрофагов (АМ) в БАЛЖ у крыс через 24 часа после интратрахеальной инстилляцией 2 мг частиц магнетита ( $Fe_3O_4$ ) разного размера в 1 мл водной суспензии ( $x \pm Sx$ ; различия между любыми двумя средними показателями статистически значимы при  $P \leq 0,05$ ).

воздухом, считать которых больными хроническим воспалением лёгких нет серьёзных оснований. С другой стороны, нами [93-97] уже давно были представлены в экспериментах и при математическом моделировании убедительные доказательства того, что усиление мобилизации НЛ является важным механизмом частичной компенсации повреждения, нанесенного цитотоксичными микрочастицами основному, а именно макрофагальному механизму их лёгочного клиренса. В настоящее же время наши эксперименты подтвердили, что сказанное ещё более справедливо для частиц nano-диапазона, и что усиленный приток НЛ, будь это элемент воспаления или нормальная защитная реакция, играет важнейшую роль в самоочищении лёгких от НЧ. Необходимо подчеркнуть, что оба эффектора фагоцитарного механизма этого самоочищения, то есть АМ и НЛ, могут быть нагружены nano-частицами в значительно большей степени, чем

соответствующими МЧ в параллельно проведенном эксперименте. При этом, чем мельче действующие НЧ, тем более жадно они поглощаются клетками обоих типов [1,2].

При заданном же диаметре наночастиц сравнительная интенсивность фагоцитарной реакции лёгких на их отложение и активность поглощения частиц фагоцитами предопределяются их химической природой, что было показано, например, при параллельном сопоставлении НЧ серебра и золота [7] или НЧ оксидов никеля и марганца [10]. От химической природы НЧ зависят и особенности их внутриклеточного распределения. Так, например, при просвечивающей электронной микроскопии АМ из БАЛЖ после введения НЧ серебра или НЧ золота оказалось, что первые имеют большее сродство к митохондриям, но меньшую способность к пенетрации внутрь ядра, чем вторые.

Во всех экспериментах полуконтактная атомно-силовая микроскопия (пкАСМ) выявила впервые описанные нами многочисленные «ямки» на поверхности как АМ, так и НЛ. Чем мельче вводившиеся интратрахеально частицы, тем меньше средний диаметр этих ямок и тем выше их среднее число на единицу поверхности клетки. В качестве примера на рисунке 2 приведены образы пкАСМ, полученные в экспериментах с МЧ и разном-размерными НЧ магнетита. Ряд косвенных, но в совокупности убедительных аргументов позволяет утверждать, что такая ямка является не просто «пробойной» от пассивного прохождения частицы через клеточную мембрану (возможность которого признаётся многими авторами и не может быть в принципе отвергнута), а зафиксированным на определённый момент времени следом её инвагинации в процессе активного эндоцитоза (фагоцитоза) частицы. Просвечивающая электронная микроскопия выявляет именно такую инвагинацию клеточной мембраны с отделением эндосомы (фагосомы), что также свидетельствует об активном эндоцитозе этих НЧ как, по меньшей мере, одном из механизмов их проникновения внутрь клетки [4-6]. Положительная ранговая корреляция между показателями НЛ/АМ и фагоцитарной активностью клеток, измеренной числом «ямок», была показана также в экспериментах с НЧ серебра и золота [7] и с медно-оксидными НЧ [9], и её наиболее вероятная причина будет рассмотрена ниже.

Таким образом, в серии взаимно подтверждающих экспериментов с интратрахеальным введением разных металлосодержащих НЧ мы показали, что как мобилизация фагоцитирующих клеток (АМ, но в особенности, НЛ) на свободную поверхность глубоких дыхательных путей, так и фагоцитарная активность единичной клетки при отложении наночастиц значительно вы-

ше, чем при отложении даже мельчайших МЧ того же состава, причём оба процесса тем более интенсивны, чем меньше диаметр НЧ, но зависят также от химической природы нановещества.

К этому следует добавить, что, как показано в экспериментах с наномagnetитом, лёгочная ткань освобождается от МЧ и НЧ тем быстрее, чем они мельче [1]. Причиной этого, по-видимому, является как более активный фагоцитарный механизм её самоочистки, так и большая растворимость НЧ, меньших по размеру и потому имеющих более высокую удельную поверхность. Ясно однако, что как физиологический, так и физико-химический механизм самоочищения лёгких от НЧ (с перемещением их в ЖКТ или напрямую в кровь), ослабляя токсическое повреждение ими этого органа, вместе с тем создают предпосылки к системной токсичности нановещества.

*Являются ли НЧ более токсичными, чем МЧ, и если да, то имеется ли однозначная зависимость защитных и патологических реакций организма на действие НЧ от их размера в пределах условленного нано-диапазона и от химической природы нановещества?*

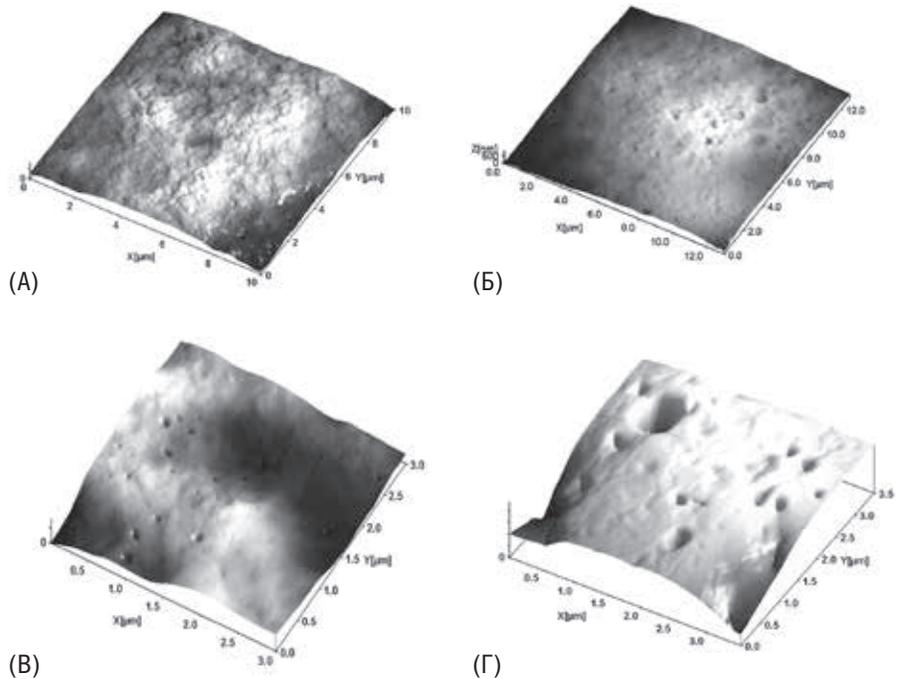
То, что переход вещества в нано-состояние неизбежно делает его значительно более токсичным, вначале утверждалось лишь на основании теоретических соображений [84, 85]. Очень скоро в ряде исследований были получены и некоторые экспериментальные данные, подтверждающие эту гипотезу, однако это подтверждение в течение определённого периода не было ни общепризнанным, ни абсолютно надёжным ввиду методических дефектов и плохой сопоставимости дизайна разных экспериментов. Даже всего 6 лет тому назад в ведущем нано-токсикологическом журнале можно было прочесть высказывание авторитетного автора о том, что распространённое утверждение о более высокой токсичности наночастиц основано лишь на ограниченном числе исследований (92). Практически ничего не было известно о сравнительной токсичности химически идентичных НЧ, различающихся по размеру *внутри* условленного нано-диапазона (от единиц до 100 нм), и недостаточно ясным было, имеет ли нано-размерность как таковая большее значение, чем химическая идентичность частицы.

Однако довольно быстро была накоплена совокупность фактов, позволяющая сегодня безоговорочно утверждать, что при совпадающих условиях экспозиции и сходной химической природе токсическое действие металлических и металло-оксидных НЧ действительно намного сильнее действия даже наименьших частиц в микрометровом диапазоне (включая субмикронные) и что при заданных размерах НЧ сила и отчасти

характер этого действия зависит от их химической природы и связанных с ней свойств, включая растворимость. Наряду с растворимостью, проявляющейся релизом ионов металла внутри клетки, куда он попадает в составе пенетрирующей или фагоцитируемой НЧ (так называемый «эффект Троянского коня»), вторым широко признанным первичным механизмом цитотоксичности и особенно генотоксичности, общим для практически всех пока изученных металлосодержащих НЧ, является индуцирование ими образования свободных радикалов, в особенности, реактивных форм кислорода (ROS – reactive oxygen species) [98].

Токсическое действие изученных нами НЧ на лёгочные фагоциты особо интересно не только потому, что оно неблагоприятно влияет на функцию этих клеток в процессе самоочищения лёгких и тем самым – на отправную точку всей токсикокинетики отлагающихся в них НЧ, но и как показатель для сравнительной оценки «ин vivo» цитотоксичности этих НЧ в более общем значении термина. Как уже было упомянуто, усиленная мобилизация новых НЛ, преобладающая над мобилизацией АМ, является механизмом частичной компенсации того разрушения макрофагов, которое вызывается цитотоксическим действием фагоцитируемых частиц. Было давно уже найдено, что такое усиление мобилизации как новых АМ, так и НЛ контролируется массой образовавшихся продуктов разрушения макрофагов (ПРМ) и особенно их липидной фракции [93-97]. Поэтому, чем более цитотоксичны для АМ частицы, отложившиеся в пульмонарной области (или чем выше введенная интратрахеально доза ПРМ, полученных асептически путём замораживания-оттаивания или ультразвукового разрушения не активированных перитонеальных макрофагов), тем выше отношение НЛ/АМ в полученной затем БАЛЖ. Этим обусловлено значение данного отношения как косвенного, но высокоинформативного сравнительного показателя цитотоксичности частиц.

Используя этот показатель, мы показали (см. выше), что металлосодержащие НЧ значительно более цитотоксичны, чем МЧ того же металла (пример в табл. 1), причём эта цитоток-



**Рис. 2.** Трёхмерная реконструкция пкАСМ-образов топографии поверхности альвеолярных макрофагов из БАЛЖ крыс после интратрахеальной инстилляцией (А) воды; (Б) суспензии частиц магнетита диаметром 10 нм; (В) то же 50 нм; (Г) то же 1 мкм. Среднее число ямок всех размеров на 100 мкм<sup>2</sup> поверхности равно, соответственно, 7,9±0,2, 83,0±0,9, 55,3±0,0 и 42,2±0,0.

сичность тем выше, чем мельче НЧ (пример дан рис.1). При заданном нано-размере значение индекса цитотоксичности НЛ/АМ зависит от химической природы НЧ. Так, при параллельном тестировании показано [7], что нано-серебро намного более цитотоксично, чем нано-золото: при среднем диаметре частиц, соответственно, 49 нм и 50 нм и дозе 0,2 мг каждого среднее отношение НЛ/АМ было равным, соответственно, 2,47±0,33 и 0,63±0,13 (в контроле 0,14±0,023 P<0,05). Подобным же образом показано, что данный индекс после интратрахеального введения НЧ NiO значимо выше, чем после введения той же дозы равноразмерных НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [10]. Ультраструктурные изменения клетки, обнаруживаемые при ПЭМ, также не одинаковы при действии разных металлов: например, НЧ серебра вызывают значительно более выраженное повреждение митохондриальных мембран и крист, чем НЧ золота [7], а НЧ оксида меди – то же по сравнению с НЧ, имеющими ядро металлической меди, покрытое меднооксидным слоем [9]. Неодинаковая растворимость, показанная нами при инкубации этих НЧ в модельных средах, является одним из возможных объяснений их неодинаковой цитотоксичности. Неодинаковая способность разных металлов к запуску внутриклеточной генерации ROS, приводящей к так называемому оксидативному стрессу, хорошо известна [99], но в наших собственных экспериментах не исследовалась.

При сравнении концентрации «ямок» на поверхности фагоцитов, обнаруживаемых с помощью пкАСМ, с показателем НЛ/АМ можно было видеть, что чем цитотоксичнее наночастицы (из-за их мельчайших размеров или их химической природы), тем более жадно эти частицы поглощаются клетками. Этот феномен легко объясним тем, что вышеупомянутые ПРМ стимулируют не только мобилизацию АМ и НЛ, но и их фагоцитарную активность, как было давно показано в эксперименте при инкубации макрофагов с 1-микронными полистирольными частицами с добавлением или без добавления ПРМ [100].

Соотношение между размерами частиц и их токсичностью на органо-системном уровне оказалось не столь однозначным, как на клеточном. Например, субхроническая токсичность НЧ магнетита оказалась, как и ожидалось, более высокой по сравнению с токсичностью 1-микронных МЧ, однако внутри нанометрового диапазона зависимость некоторых токсических эффектов от диаметра частиц была обратной, что особенно характерно для органов, богатых клетками РЭС и поэтому активно накапливающих НЧ из крови – в частности, для печени и селезёнки [1,3]. Этот парадокс связан с тем, что, как было показано в тех же экспериментах, оба названных органа накапливали НЧ диаметром 50 нм в большей массе, чем НЧ диаметром 10 нм (рис. 3). В свою очередь, это может быть объяснено сложными соотношениями между более высокой способностью мельчайших НЧ к пенетрации в кровь из первичного депо и затем в клетки органов из крови, с одной стороны, и их менее длительной ретенцией в клетках ввиду большей растворимости и большей цитотоксичности, с другой. Баланс между этими противонаправленными токсикокинетическими механизмами зависит от конкретных размеров и скоростей растворения частиц. Отметим, что уже при диаметре 1 мкм частицы магнетита в печени и селезёнке практически не обнаружива-

ются, а это может быть объяснено их малой способностью к диффузионной пенетрации через серозную оболочку брюшной полости в кровь.

При равном же размере НЧ накопление металлов в тех же органах, очевидно, контролируется сравнительной растворимостью и сравнительной цитотоксичностью, определяемыми химической природой металла. Так, при субхронической загрузке равноразмерными НЧ серебра и золота [7], более растворимое и более цитотоксичное нано-серебро накапливалось и в печени ( $0,12 \pm 0,01$  мг на г сухой массы), и в селезёнке ( $0,40 \pm 0,04$  мг) в меньшем количестве, чем нано-золото (соответственно,  $0,20 \pm 0,02$  мг и  $0,50 \pm 0,1$  мг; по печени разница значима при  $P < 0,01$ ). Напротив, те же самые различия растворимости естественно приводят к большему накоплению серебра, чем золота в почках, через которые выводятся не столько сами НЧ, сколько перешедшие из них в кровь ионы металла: соответственно,  $0,26 \pm 0,09$  мг и  $0,010 \pm 0,001$  мг на г сухой массы ( $P < 0,05$ ).

На той же паре нано-металлов было показано, что химическая природа наночастиц определяет различия их не только цитотоксичности, но и органо-системной токсичности, а также полиорганной генотоксичности, впервые в нанотоксикологии, насколько нам известно, исследовавшей нами [7] на организменном уровне. Отметим однако, что более высокая генотоксичность серебра по сравнению с золотом, найденная в печени, селезёнке, костном мозге и крови (при статистической значимости этого различия для печени и селезёнки), не проявилась в почке (табл. 2). Это можно объяснить не только показанным выше меньшим накоплением в ней серебра по сравнению с золотом, но и значительно более выраженным, судя по морфометрическим показателям [7], токсическим повреждением тубулярного эпителия вплоть до клеточного некроза, что маскирует генотоксический эффект. Такая гипотеза находит подтверждение в экспериментах с медно-оксидными НЧ, которые ещё более раство-

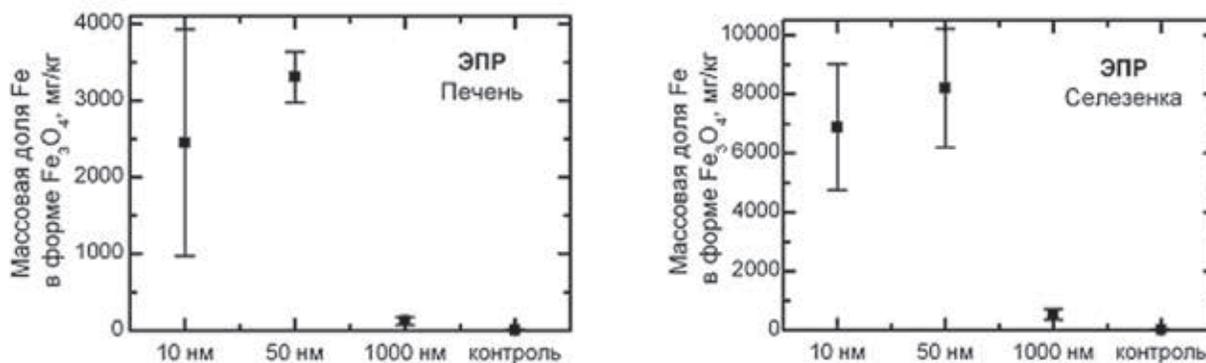


Рис. 3. Средние ( $\pm$ sx) концентрации железа в форме  $Fe_2O_3$ , определённые с помощью ЭПР, в ткани печени и селезёнки у крыс после повторных в/б введений частиц магнетита разного размера

Таблица 2

**Коэффициент фрагментации ядерной ДНК (ПДФ-тест) в клетках разных органов у крыс при субхроническом внутрибрюшинном воздействии равноразмерных наночастиц серебра или золота ( $\bar{x} \pm s_x$ )**

ГРУППЫ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ	ТКАНИ				
	Печень	Костный мозг	Селезёнка	Почка	Ядерные клетки крови
<b>Воды (контроль)</b>	0,399 ± 0,001	0,385 ± 0,003	0,379 ± 0,002	0,385 ± 0,003	0,383 ± 0,001
<b>Нано-золота</b>	0,392 ± 0,010°	0,412 ± 0,014 *	0,397 ± 0,008°	0,422 ± 0,009 *	0,403 ± 0,018
<b>Нано-серебра (НС)</b>	0,461 ± 0,002 *	0,455 ± 0,032 *	0,462 ± 0,001*	0,423 ± 0,008 *	0,413 ± 0,012 *
<b>НС + БПК</b>	0,408 ± 0,011°	0,373 ± 0,003 *°	0,419 ± 0,003 *°	0,407 ± 0,006 *°	0,390 ± 0,007

Примечание: статистически значимо отличается: \* от контрольной группы; ° от группы, получавшей нано-серебро ( $P < 0,05$  по t Стьюдента).

Таблица 3

**Влияние биопрофилактического комплекса (БПК) на угнетение активности сукцинатдегидрогеназы (число гранул формазана на 50 лимфоцитов крови) у крыс при субхронической интоксикации наночастицами серебра ( $\bar{X} \pm s_x$ )**

группы крыс при воздействии:			
наносеребра (НС)	НС + БПК	БПК	Воды (контроль)
679,9±12,4*•	827,8±22,1	834,1±11,2	805,33±12,6

Примечание: статистически значимое отличие \* от контроля; • от группы НС+БПК ( $P < 0,05$  по t Стьюдента)

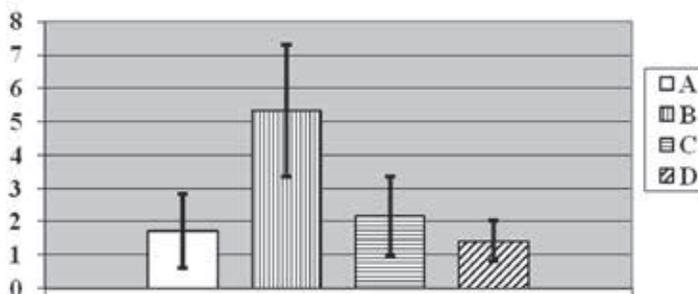
римы и более нефротоксичны, чем НЧ серебра [8]. В этом случае почки оказались единственным органом, в котором коэффициент фрагментации ДНК вообще не был повышен по сравнению с контролем. Однако в параллельной группе, в которой экспозиция к тем же СиО-НЧ проводилась на фоне действия биопротекторов, морфометрические показатели повреждения и гибели клеток тубулярного эпителия почек были существенно снижены (табл. 4), в то время как в почках именно этой группы крыс проявился значимый генотоксический эффект интоксикации (ослабленный в других органах).

*Существует ли принципиальная возможность установления жёстких, но практически осуществимых стандартов допустимой экспозиции?*

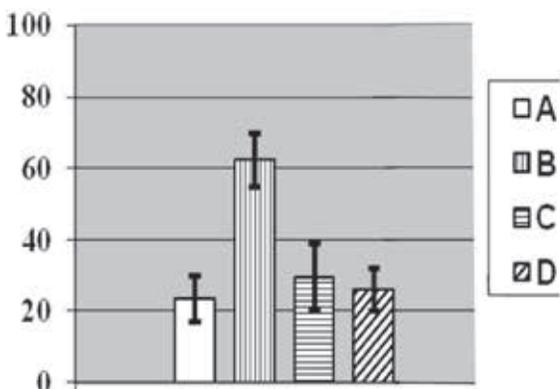
Для любых потенциально вредных веществ установление подобных стандартов, как бы они

ни назывались и каков бы ни был их юридический статус в той или иной стране, опирается на одну и ту же, признаваемую открыто или принимаемую по умолчанию принципиальную предпосылку: созданные эволюцией защитные и компенсаторные механизмы дают возможность человеческому организму адаптироваться к неким низким уровням той или иной вредной экспозиции без заметного нарушения здоровья и даже без уловимого повышения риска стохастических вредных эффектов над фоновым уровнем. Экспериментальные данные, обобщённые выше, позволяют утверждать, что организм подобным же образом не беззащитен и по отношению к металлодержащим НЧ.

С другой стороны, наши данные подтверждают преобладающие представления, согласно которым вещество, даже относительно безвредное и мало опасное в обычном состоянии (подобно



**Рис. 4.** Число микроагрегатов гемосидерина на квадрат сетки Автандилова в красной пульпе селезёнки крыс, подвергавшихся воздействию (А) воды (Control); (В) водной nano-суспензии CuO ; (С) водной nano-суспензии CuO на фоне приёма БПК и (D) только БПК. (Средние значения и 95% ДИ). Различия статистически значимы между(В) или (С) против (А), и между (С) против (В) ( $P < 0.05$  *t* Стьюдента).



**Рис. 5.** Число клеток без ядрышка на 100 клеток Гольджи в хвостатом ядре головного мозга крыс, подвергавшихся воздействию (А) воды (Control); (В) водной nano-суспензии CuO; (С) водной nano-суспензии CuO на фоне приёма БПК и (D) только БПК. (Средние значения и 95% ДИ). Различия статистически значимы между(В) или (С) против (А), и между (С) против (В) ( $P < 0,05$  *t* Стьюдента).

магнетиту) может оказаться выражено токсичным в форме наночастиц, а те вещества, вредное действие которых на организм несомненно и в виде частиц микрометрового диапазона, составляющих преобладающую часть массы промышленных аэрозолей, становятся гораздо опаснее, когда действуют в форме НЧ. При этом с уменьшением размеров внутри nano-диапазона токсичность на клеточном уровне усиливается, но на органо-системном может по некоторым эффектам снижаться, оставаясь всё же более высокой по сравнению с даже мельчайшими частицами микрометрового диапазона.

Поэтому мы убеждены в том, что: (а) в принципе установление нормативов типа ПДК и ли ОБУВ для содержания НЧ в воздухе рабочих помещений не менее оправдано, чем для содержания МЧ; (б) такие нормативы должны быть суще-

ственно ниже установленных для МЧ той же химической природы; (в) на данном этапе НЧ могут нормироваться без подразделения по суб-фракциям разных размеров.

Эти постулаты хорошо согласуются и с пока ещё достаточно ограниченной международной практикой нормирования НЧ. Хотя проблема оценки и управления рисками для здоровья, связанными с наноматериалами, обсуждается в литературе активно [101,102], общепринятых принципов установления соответствующих стандартов всё ещё нет, и имеются лишь единичные примеры обоснования допустимых уровней экспозиции для конкретных искусственных НЧ в воздухе рабочих помещений. Разработка сценариев управления рисками чаще всего проводится с оговоркой, что такие уровни неизвестны [103] и поэтому следует руководствоваться так называемым «принципом предосторожности» [104], который в данном случае означает ограничение экспозиции к НЧ до такого низкого уровня, который только может быть обеспечен. Тем не менее, необходимость установления предположительно безопасных концентраций НЧ признаётся несомненной, и в некоторых странах такие величины начали приниматься в качестве обязательных или хотя бы рекомендательных нормативов.

Так, в США Национальный Институт профессиональной безопасности и здоровья (NIOSH) предложил так называемый REL (Recommended Exposure Limit) на уровне 0,3 мг/м<sup>3</sup> для «ультратонких» частиц TiO<sub>2</sub> (в том числе, для искусственных НЧ), что в 8 раз ниже, чем REL 2.4 мг/м<sup>3</sup> для «тонких» (т.е. мельчайших микрометровых) частиц того же вещества [105]. При этом данный норматив отнесен к частицам любых nano-размеров, хотя именно nano-порошки диоксида титана выпускаются на рынок с различными диаметрами частиц от 10 нм до 50 нм. Сходный и даже более жёсткий подход к установлению групповых стандартов безопасности для искусственных наноматериалов был принят в 2010 году Австралийским правительственным агентством «Safe Work Australia». В частности, для любых нанокристаллов, квантовых точек, НЧ керамических оксидов и НЧ металлов ориентировочный норматив, называемый BEL (Benchmark Exposure Level,) должен быть равен 0.066WEL (где WEL означает Workplace Exposure Limit, то есть «предел экспозиции на рабочем месте» к тому же веществу в обычном состоянии) – другим словами, речь идёт о снижении норматива в 15 раз.

Исходя из изложенных выше подходов и на основе собственных экспериментальных данных мы [4,106] предложили для рассмотрения в качестве ориентировочно безопасных для НЧ в воздухе рабочих помещений следующие концентрации: для оксидов железа 0,4 мг/м<sup>3</sup>, для золота

Таблица 4

**Влияние биопрофилактического комплекса (БПК) на морфометрические показатели повреждения тубулярного эпителия в почках крыс при субхронической интоксикации наночастицами окиси меди ( $\bar{X} \pm s_x$ )**

Группы крыс при воздействии:	Потеря щёточной каёмки (% по длине канальца)	Десквамация эпителия (% по длине канальца)
Воды (контроль)	5.39 ± 0.42	0.33 ± 0.13
Нано-CuO	8.36 ± 0.76 *	1.16 ± 0.38 *
Нано-CuO + БПК	5.98 ± 0.46 *	0.98 ± 0.35
БПК	6.03 ± 0.57	0.73 ± 0.21

Примечание: статистически значимое отличие \* от контроля; • от группы нано- CuO (P<0,05 по t Стьюдента)

0,2 мг/м<sup>3</sup>, для серебра 0,1 мг/м<sup>3</sup> и для оксидов меди 0,05 мг/м<sup>3</sup>.

*Возможно ли повысить резистентность организма к вредному действию металлосодержащих частиц?*

Какие бы низкие уровни НЧ-экспозиции ни были установлены как допустимые, особая потенциальная опасность этого класса загрязнителей воздуха делает высоко целесообразным поиск возможности сделать организм менее чувствительным к их вредному действию с помощью комплекса неспецифических и специфических биопротекторов, которые в профилактически эффективных дозах не имели бы собственных побочных эффектов. Общая концепция такой «биологической профилактики», теоретические предпосылки и многочисленные примеры её реализации публиковались неоднократно, в том числе, в обобщающих статьях [107,108]. Этот более, чем 30-летний опыт позволил нам начать продолжающиеся и в настоящее время исследования того же направления, но уже и в области нанотоксикологии металлов.

В частности, наши эксперименты показали, что органо-системная субхроническая токсичность и связанная с нею полиорганная генотоксичность наночастиц серебра [7] и окиси меди [8] существенно ослаблены, если интоксикация развивается на фоне перорального назначения многокомпонентных биопрофилактических комплексов (БПК), в состав которых (подобранный с учётом как общих токсикокинетических и токсикодинамических механизмов действия металлосодержащих НЧ, так и специфики действия конкретного металла) входят пектин, поливитамин-полиминеральные препараты, препараты отдельных витаминов и микроэлементов, некоторые аминокислоты и НЭЖК класса омега-3. Более детальный состав соответствующих БПК приведен в [7] и [8], а также в описании патента

RU 2 530 639 C1. Некоторые результаты экспериментов, иллюстрирующие эффективность испытанных БПК, приведены в таблицах 2 - 4 и на рисунках 4 и 5. Мы показали также [10], что у крыс, получавших на протяжении 4 недель перед однократной интратрахеальной инстилляцией NiO+Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (по 0,25 мг каждого) глютамат, глицин, ацетил-цистеин, иодид и селен-содержащий поливитаминный препарат, был значимо снижен показатель НЛ/АМ.

**Выводы.** 1. Изученные нами металлосодержащие наночастицы обладают более выраженным вредным действием как на клеточном, так и на органо-системном уровне по сравнению с даже мельчайшими микрочастицами соответствующего химического состава. Вместе с тем, в пределах условленного нанодиапазона зависимость органо-системной токсичности от размера частиц является неоднозначной. При равных размерах токсичность наночастиц зависит от их химической природы.

2. По меньшей мере, один из ключевых защитных механизмов при воздействии наночастиц на лёгкие (фагоцитарная реакция) не только не менее, как ранее предполагалось, но даже более активен, чем при воздействии микрочастиц. Это указывает на принципиальную возможность установления допустимых уровней загрязнения воздуха металлосодержащими наночастицами, однако эти уровни должны быть значительно ниже тех, которые приняты для соответствующих микрочастиц.

3. Резистентность организма к токсичности и генотоксичности металлосодержащих наночастиц удаётся повысить с помощью комплекса биопротекторов, подобранных с учётом как общих токсикокинетических и токсикодинамических механизмов действия металлосодержащих НЧ, так и специфики действия конкретного металла.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigaliev I.A. et al. Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (magnetite) nanoparticles. *Cent Eur J Occup Environ Med.* 2010; 16: 47–63.
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S. et al. Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? *Int J Occup Environ Health.* 2010; 16: 508–524.
- Katsnelson B.A., Degtyareva T.D., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Yeremenko O.S. et al. Sub-chronic systemic toxicity and bio-accumulation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nano- and microparticles following repeated intraperitoneal administration to rats. *Int J Toxicol.* 2011; 30: 60–67.
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Kireyeva E.P. et al. An approach to tentative reference levels setting for nanoparticles in the workplace air based on comparing their toxicity with that of their micrometric counterparts: A case study of iron oxide Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. *ISRN Nanotechnol.* 2012; 2012: 12.
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Khodos M.Y., Shur V.Y., Shishkina E.I. et al. Uptake of some metallic nanoparticles by, and their impact on pulmonary macrophages in vivo as viewed by optical, atomic force, and transmission electron microscopy. *J Nanomed Nanotechnol.* 2012; 3: 1–8.
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Tulakina L.G., Pichugova S.V., Beikin J.B. et al. The “in vivo” interaction between iron oxide Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and alveolar macrophages. *Bull Exp Biol Med.* 2012; 152: 627–631.
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin J.B. et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 2449–2483.
- Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E. et al. Subchronic Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles and Its Attenuation with the Help of a Combination of Bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2014; 15: 12379–12406. doi:10.3390/ijms150712379
- Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.B. et al. Some Characteristics of Free Cell Population in the Airways of Rats after Intratracheal Instillation of Copper-Containing Nano-Scale Particles. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15: 21538–21553; doi:10.3390/ijms151121538
- Кацнельсон Б. А., Минигалиева И. А., Привалова Л. И., Сутункова М. П., Гурвич В. Б., Шур В. Я., Шишкина Е. В., Вараксин А. Н., Панов В. Г. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интрабронхиальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и её ослабление биопротекторной премедикацией. *Токсикологический Вестник.* 2014; 6: 8–14.
- Zhu M.T., Feng W.Y., Wang B., Wang T.C., Gu Y.Q., Wang Y. et al. Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron ferric oxide in rats. *Toxicol.* 2008; 247:102–111.
- Mahmoudi M., Simchi A., Milani A.S., Stroeve P. Cell toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *J Colloid Interface Sci.* 2009; 336 (2): 510–518. doi: 10.1016/j.jcis.2009.04.046
- Mahmoudi M., Laurent S., Shokrgozar M.A., Hosseinkhani M. Toxicity Evaluations of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles: Cell “Vision” versus Physicochemical Properties of Nanoparticles. *ACS Nano.* 2011; 5 (9): 7263–7276. doi: 10.1021/nn2021088
- Naqvi S., Samim M., Abidin M.Z., Ahmed F.J., Maitra A.N., Prashant C.K. et al. Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *Int J Nanomedicine.* 2010; 5: 983 – 989. doi:http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S13244
- Wu X., Tan Y., Mao H., Zhang M. Toxic effects of iron oxide nanoparticles on human umbilical vein endothelial cells. *Int J Nanomedicine.* 2010; 5: 385–99.
- Singh N., Jenkins G.S., Asadi R., Doak S.H. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano Rev.* 2010; 1: 5358. doi: 10.3402/nano.v1i0.5358
- Soenen S.J., De Cuyper M., De Smedt S.C., Braeckmans K. Investigating the toxic effects of iron oxide nanoparticles. *Methods Enzymol.* 2012; 509: 195–224. doi: 10.1016/B978-0-12-391858-1.00011-3
- Liu G., Gao J., Ai H., Chen X. Applications and potential toxicity of magnetic iron oxide nanoparticles. *Small.* 2013; 9(9–10): 1533–45. doi: 10.1002/smll.201201531
- Markides H., Rotherham M., El Haj A.J. Biocompatibility and Toxicity of Magnetic Nanoparticles in Regenerative Medicine. *J Nanomater.* 2012; 2012: 614094. doi: 10.1016/j.jcis.2009.04.046
- Barhoumi L., Dewez D. Toxicity of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles on Green Alga *Chlorella vulgaris*. *BioMed Res Int.* 2013; 2013: 647974. doi: 10.1155/2013/647974
- Ahamed M., Kams M., Goodson M., Rowe J., Hussain S.M., Schlager J.J. et al. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008; 233: 404–410.
- Arora S., Jain J., Rajwade J.M., Paknikar K.M. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009; 236: 310–318.
- Trickler W.J., Lantz S.M., Murdock R.C., Schrand A.M., Robinson B.L., Newport G.D. et al. Silver nanoparticle induced blood-brain barrier inflammation and increased permeability in primary rat brain micro vessel endothelial cells. *Toxicol Sci.* 2010; 118: 160–170.
- Li T., Albee B., Alemayehu M., Diaz R., Ingham L., Kamal S. et al. Comparative toxicity study of Ag, Au, Ag-Au bimetallic nanoparticles on *Daphnia magna*. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 398: 689–700.
- Park E.-J., Bae E., Yi Y., Younghun K., Choi K., Lee S.H. et al. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nano-particles. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2010; 30: 162–168.
- Park M.V., Neigh A.M., Vermeulen J.P., de la Fonteyne L.J., Verharen H.W., Biede J.J. et al. The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. *J Biomater.* 2011; 32: 9810–9817.
- Choi J.E., Kim S., Ahn J.H., Youn P., Kang J.S., Park K. et al. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Aquat Toxicol.* 2010; 100: 151–159.
- Kim Y.S., Song M.Y., Park J.D., Song R.S., Ryu H.R., Chung Y.H. et al. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part Fibre Toxicol.* 2010; 7: 20.
- Ahmadi F., Kordestany A.H. Investigation on silver retention in different organs and oxidative stress enzymes in male broiler fed diet supplemented with powder of nano silver. *Am-Euras J Toxicol Sci.* 2011; 3: 28–35.
- Stebounova L.V., Adamcakova-Dodd A., Kim J.S. Nanosilver induces minimal lung toxicity or inflammation in a subacute murine inhalation model. *Part Fibre Toxicol.* 2011; 8: 5.
- Srivastava M., Singh S., Self W.T. Exposure to silver nanoparticles inhibits selenoprotein synthesis and the activity of thioredoxin reductase. *Environ Health Perspect.* 2011; 120: 56–61.
- Hackenberg S., Scherzed A., Kessler M., Hummel S., Technau A., Froelich E. et al. Silver nanoparticles: Evaluation of DNA damage, toxicity and functional impairment in human mesenchymal stem cell. *Toxicol Lett.* 2011; 201: 27–33.
- Foldbjerg R., Dang D.A., Autrup H. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549. *Arch Toxicol.* 2011; 85: 743–750.
- Kim H.R., Kim M.J., Lee S.Y., Oh S.M., Chung K.H. Genotoxic effects of silver nanoparticles stimulated by oxidative stress in human normal bronchial epithelial (BEAS-2B) cells. *Mutat Res.* 2011; 726: 129–135.
- Li Y., Chen D.H., Yan J., Chen Y., Mittelstaedt R.A., Zhang Y. et al. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and in vitro micronucleus assay. *Mutat Res.* 2012; 745: 4–10.
- Tavares P., Balbino F., Martins de Oliveira H., Fugundes G.E., Vanancio M., Ronconi J.V.V. et al. Evaluation of genotoxic effect of silver nanoparticles (Ag-NPs) in vitro and in vivo. *J Nanopart Res.* 2012; 14: 791.
- Asare N., Instanes C., Sandberg W.J., Refsnes M., Schwarze P., Kruszewski M. et al. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cell. *Toxicology.* 2012; 291: 65–72.
- Flower N.A.L., Brabu B., Revathy M., Gopalakrishnan C., Raja S.V.K., Murugan S.S. et al. Characterization of synthesized silver nanoparticles and assessment of its genotoxicity potentials using the alkaline comet assay. *Mutat Res.* 2012; 742: 61–65.
- Karlsson H., Gliga A.R., Kohonen P., Wallberg P., Fadeel B. Genotoxicity and epigenetic effects of silver nanoparticles. *Toxicol Lett.* 2012; 211(Supplement): S40.
- Lim D.-H., Jang J., Kim S., Kang T., Lee K., Choi I.H. The effects of sub-lethal concentrations of silver nanoparticles on inflammatory and stress in human macrophages using cDNA microarray analysis. *Biomaterials.* 2012; 33: 4690–4699.
- Beer C., Foldbjerg R., Hayashi Y., Sutherland D.S., Autrup H. Toxicity of silver nanoparticles—Nanoparticle or silver ion? *Toxicol Lett.* 2012; 208: 286–292.
- Cronholm P., Karlsson H.L., Hedberg J., Lowe T.A., Winnberg L., Elihn K. et al. Intracellular uptake and toxicity of Ag and CuO nanoparticles: A comparison between nanoparticles and their corresponding metal ions. *Small.* 2013; 8: 970–982.
- Gomes T., Araújo O., Pereira R., Almeida A.C., Cravo A., Bebianno M.J. Genotoxicity of copper oxide and silver nanoparticles in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Environ Res.* 2013; 84: 51–59.
- Ahamed M., AlSalhi M.S., Siddiqui M.K.J. Silver nanoparticles applications and human health. *Clin Chim Acta.* 2010; 411: 1841–1844.
- Sanjay Singh, D'Britto V., Prabhune A.A., Ramana C.V., Dhawan A., Prasad B.L.V. Cytotoxic and genotoxic assessment of glycolipid-reduced and -capped gold and silver nanoparticles. *New J Chem.* 2011; 34: 294–301.
- Bakri S.J., Pulido J.S., Mukerjee P., Marler R.J., Mukhopadhyay D. Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal nanogold in a rabbit model. *Retina.* 2008; 28: 147–149.
- Pan Y., Leifert A., Ruau D., Neuss S., Bornemann J., Schmid G. et al. Gold nanoparticles of diameter 1.4 nm trigger necrosis by oxidative stress and mitochondrial damage. *Small.* 2009; 5: 2067–2076.
- Chen Y.-Sh., Hung Y.-Ch., Huang G.S. Assessment of the in vivo toxicity of gold nanoparticles. *Nanoscale Res Lett.* 2009; 4: 858–864.
- Balasubramanian S.K., Jittiwat J., Manikandan J., Ong Ch-N., Yu L.E., Ong W.-Y. Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats. *Biomaterials.* 2010; 31: 2034–2042.
- Zhang Q., Hitchins V.M., Schrand A.M., Hussain S.M., Goering P.L. Uptake of gold nanoparticles in murine macrophage cells without cytotoxicity or production of proinflammatory mediators. *Nanotoxicology.* 2010; 5: 284–295.
- Li J.J., Lo S.L., Ng C.T., Guring R.L., Hartono D., Hande M.P. et al. Genomic instability of gold nanoparticle treated human lung fibroblast cells. *Biomaterials.* 2011; 32: 5515–5523.
- Trickler W.J., Lantz S.M., Murdock R.C., Newport G.D., Oldenburg S.J., Paule M.G. et al. Brain microvessel endothelial cells responses to gold microparticles: In vitro pro-inflammatory mediators and permeability. *Nanotoxicology.* 2011; 5: 479–492.
- Glazer E.S., Zhu C., Hamir A.N., Borne A., Thompson C.S., Curley S.A. Biodistribution and acute toxicity of naked gold nanoparticles in a rabbit hepatic tumor model. *Nanotoxicology.* 2011; 5: 459–468.
- Mustafa T., Watanabe F., Monroe W., Mahmood M., Xu Y., Saeed L.M. et al. Impact of gold nanoparticle concentration on their cellular uptake by MC3T3-E1 mouse osteoblastic cells as analyzed by transmission electron microscopy. *J Nanomed Nanotechnol.* 2011; 2: 1–8.
- Rudolf R., Friedrich B., Stopic S., Anzel I., Tomic S., C'olic M. Cytotoxicity of gold nanoparticles prepared by ultrasonic spray pyrolysis. *J Biomater Appl.* 2012; 26: 595–612.
- Dykman L., Khebtsov N. Gold nanoparticles in biomedical applications: Recent advances and perspectives. *Chem Soc Rev.* 2012; 41: 2256–2282.
- Choi S.Y., Jeong S., Jang S.H., Park J., Ock K.S., Lee S.Y. et al. In vitro toxicity protein-adsorbed citrate-reduced gold nanoparticles in human lung adenocarcinoma cells. *Toxicol In Vitro.* 2012; 26: 229–237.
- Shulz M., Ma-Hock L., Brill S., Strauss V., Treumann S., Gröters S. et al. Investigation on the genotoxicity of different sizes of gold nanoparticles administered to the lungs of rats. *Mutat Res.* 2012; 745: 51–57.
- Богословская О. А., Сизова Е. А., Полякова В. С., Мирошников С. А., Лейпунский И. О., Ольховская И. П., Глушенко Н. Н. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных. *Вестник ОГУ.* 2009; 2: 124 – 127
- Chen Z., Meng H., Xing G., Chen C., Zhao Y., Jia G. et al. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol Lett.* 2006; 25: 109–120.

61. 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: 1726-1732.
62. Studer A.M., Limbach L.K., van Duc L., Krumeich F., Athanassiou E.K., Gerber L.C. et al. Nanoparticle cytotoxicity depends on intracellular solubility: comparison of stabilized copper metal and degradable copper oxide nanoparticles. *Toxicol Lett.* 2010; 1: 169-174.
63. Bondarenko O., Ivask A., Käkinen A., Kahru A. Sub-toxic effects of CuO nanoparticles on bacteria: Kinetics, role of Cu ions and possible mechanisms of action. *Environ Pollut.* 2012; 169: 81-89.
64. Pang C., Selck H., Misra S.K., Berhanu D., Dybowska A., Valsami-Jones E. et al. Effects of sediment-associated copper to the deposit-feeding snail, *Potamopyrgus antipodarum*: A comparison of Cu added in aqueous form or as nano- and micro-CuO particles. *Aquat Toxicol.* 2012; 15: 114-122.
65. Magaye R., Zhao J., Bowman L., Ding M. Genotoxicity and carcinogenicity of cobalt-, nickel- and copper-based nanoparticles. *Exp Ther Med.* 2012; 4: 551-561.
66. Alarifi S., Ali D., Verma A., Alakhtani S., Ali B.A. Cytotoxicity and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in human skin keratinocytes cells. *Int J Toxicol.* 2013; 32: 296-307.
67. Xu J., Li Z., Xu P., Xiao L., Yang Z. Nanosized copper oxide induces apoptosis through oxidative stress in podocytes. *Arch Toxicol.* 2013; 87: 1067-1073.
68. Cuillel M., Chevallet M., Charbonnier P., Fauquant C., Pignot-Paintrand I., Arnaud J. et al. Interference of CuO nanoparticles with metal homeostasis in hepatocytes under sub-toxic conditions. *Nanoscale.* 2014; 16: 1707-1715.
69. Zhang Q., Yukinori K., Sato K., Nakakuki K., Koyahama N., Donaldson K. Differences in the extent of inflammation caused by intratracheal exposure to three ultrafine metals: Role of free radicals. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1998; 53: 423-438.
70. Zhang Q., Yukinori K., Zhu X., Sato K., Mo Y., Kluz T., Donaldson K. Comparative toxicity of standard nickel and ultrafine nickel after intratracheal instillation. *J. Occup. Health.* 2003; 45: 23-30.
71. Magaye R. and Zhao. Recent progress in studies of metallic nickel and nickel-based nanoparticles' genotoxicity and carcinogenicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2012; 34(3): 644-650.
72. Morimoto Y., Hirohashi M., Ogami A., Oyabu T., Myojo T., Hashiba M. et al. Pulmonary toxicity following an intratracheal instillation of nickel oxide nanoparticle agglomerates. *Journal of Occupational Health.* 2011; 293-295
73. Capasso L., Camatini M., Gualtieri M. Nickel oxide nanoparticles induce inflammation and genotoxic effect in lung epithelial cells. *Toxicol Lett.* 2014; Apr7: 226(1): 28-34. doi: 10.1016/j.toxlet.2014.01.040.
74. Saber M., Hussain S.M., Javorina A.K., Schrand A.M., Duhart H.M. et al. The Interaction of Manganese Nanoparticles with PC-12 Cells Induces Dopamine Depletion. *Tox Sciences.* 2006; 92(2): 456-463
75. Singh S.P., Kumari M., Kumari S.I., Rahman M.F., Mahboob M., Grover P. Toxicity assessment of manganese oxide micro and nanoparticles in Wistar rats after 28 days of repeated oral exposure. *J Appl Toxicol.* 2013; Oct 24; 33(10):1165-1179.
76. Зайцева Н. В., Землянова М. А., Звездин В. Н., Саенко Е. В., Тарантин А. В., Махмудов Р. Р., Лебединская О. В., Мелехин С. В., Акафьева Т. И. Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности нано- и микро-дисперсного оксида марганца (III, IV). *Вопросы питания.* 2012; 5: 13-19
77. Katsnelson B.A., Konysheva L.K., Privalova L.Y., Morosova K.I. Development of a multicompartmental model of the kinetics of quartz dust in the pulmonary region of the lung during chronic inhalation exposure of rats. *Brit J Ind Med.* 1992; 49:172-181.
78. Geiser M., Kreyling W.G. Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles. *Part Fibre Toxicol.* 2010; 7(2): doi:10.1186/1743-8977-7-2
79. Task Group. ICRP Publication 66: Human respiratory tract model for radiological protection. A report of a Task Group of the International Commission on Radiological Protection. *Ann ICRP.* 1994; 24: 1-482.
80. Kreyling W.G., Geiser M. Dosimetry of inhaled nanoparticles. In: Marjijnissen JC, Graden L, editors. *Nanoparticles in Medicine and Environment, Inhalation and Health Effects.* Berlin, Germany: Springer; 2009; 145-173.
81. Fröhlich E., Salar-Bezhadi S. Toxicological assessment of inhaled nanoparticles: Role of in vivo, ex vivo, in vitro, and in silico studies. *Int J Mol Sci.* 2014; 15: 4795-4822.
82. Sadauskas E., Wallin H., Stolenberg M., Vogel U., Doering P., Larsen A. et al. Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism. *Part Fibre Toxicol.* 2007; 4: 10-16. doi: 10.1186/1743-8977-4-10
83. Lasagna-Reeves C., Gonzalez-Romero D., Barria M.A., Olmedo I., Clos A., Sadagopa Ramanujam V.M. et al. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 393: 649-655.
84. Donaldson K., Stone V., Tran C.K., Kreyling W., Borm P.J. Nanotoxicology (editorial). *Occup Environ Med.* 2004; 61: 727-728.
85. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studied of ultrafine particles. *Environ Health Persp.* 2005; 113: 823-839.
86. Fadeel B. Clear and present danger? Engineered nanoparticles and the immune system. *Swiss Med Wkly.* 2012; 142:w13609
87. Kilburn K.H. Alveolar clearance of particles. A bullfrog lung model. *Arch Environ Health.* 1969; 18:556-563.
88. Renwick L., Brown D., Clouter K., Donaldson K. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types. *Occup Environ Med.* 2004; 61: 442-447.
89. Stoeger T., Reinhard C., Takenaka Sh., Schroepel A., Karg E., Ritter B. et al. Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice. *Environ Health Perspect.* 2006; 114(3): 328-333.
90. Grassian V.H., O'Shaughnessy P.T., Adamcakova-Dodd A., Pettibone J.M., Thorne P.S. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ Health Perspect.* 2007; 115: 397-402.
91. Sager T.M., Porter D.W., Robinson V.A., Lindsley W.G., Schwegler-Berry V.A., Castranova V. Improved method to disperse nanoparticles in vitro and in vivo investigation of toxicity. *Nanotoxicol.* 2007; 1: 118-129.
92. Warheit D.B., Reed K.L., Sayes C.M. A role for surface reactivity in TiO<sub>2</sub> and quartz-related nanoparticle pulmonary toxicity. *Nanotoxicol.* 2009; 3: 181 - 187.
93. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Osipenko A.B., Yushkov B.H., Babushkina L.G. Response of a phagocyte cell system to products of macrophage breakdown as a probable mechanism of alveolar phagocytosis adaptation to deposition of particles of different cytotoxicity. *Environ Health Perspect.* 1980; 35: 205-218.
94. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Yelnichnykh L.N. Some peculiarities of the pulmonary phagocytic response, dust kinetics, and silicosis development during long term exposure of rats to high quartz levels. *Brit J Ind Med.* 1987; 44: 228-235.
95. Katsnelson B.A., Privalova L.I. Recruitment of phagocytizing cells into the respiratory tract as a response to the cytotoxic action of deposited particles. *Environ Health Perspect.* 1984; 55: 313-325.
96. Katsnelson B.A., Konysheva L.K., Sharapova N.Y., Privalova L.I. Prediction of the comparative intensity of pneumoconiotic changes caused by chronic inhalation exposure to dusts of different cytotoxicity by means of a mathematical model. *Occup Environ Med.* 1994; 51:173-180.
97. Katsnelson B.A., Konysheva L.K., Privalova L.Y., Sharapova N.Y. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartmental model: Further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles. *Inhalat Toxicol.* 1997; 9: 703-715.
98. Fröhlich E. Cellular targets and mechanisms in the cytotoxic action of non-biodegradable engineered nanoparticles. *J Curr Drug Metab.* 2013; 14: 976-988.
99. Manke A., Wang L., on Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. Review article. *BioMed Research International.* 2013; 2013: Article ID 942916. 15
100. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sharapova N.Y., Kisilitsina N.S. On the relationship between activation and the breakdown of macrophages in pathogenesis of silicosis. *Med Lav.* 1995; 86: 511-521.
101. Yokel R.A., MacPhail R.C. Engineered nanomaterials: exposures, hazards, and risk prevention. *J Occup Med Toxicol.* 2011; 6: 7. doi:10.1186/1745-6673-6-7
102. Murashov V., Shulte P., Geraci C., Howard J. Regulatory approaches to worker protection in nanotechnology industry in the USA and European Union. *Industr Health.* 2011; 49: 280-296.
103. Groscio A., Petri-Fink A., Magrez A., Rediker M., Meyer T. Management of nanomaterials safety in research environment. *Part Fibre Toxicol.* 2010; 7: 40. doi: 10.1186/1743-8977-7-402010
104. van Broekhuizen P. Dealing with uncertainties in the nanotech workplace practice: making the precautionary approach operational. *J Biomed Nanotechnol.* 2011; 7: 15-17.
105. CDC and NIOSH. Current Intelligence Bulletin 63: Occupational Exposure to Titanium Dioxide. US Department of Health and Human Services. NIOSH 2011.
106. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Minigaliev I.A., Loginova N.V., et al. Some inferences from in vivo experiments with metal and metal oxide nanoparticles: the pulmonary phagocytosis response, subchronic systemic toxicity and genotoxicity, regulatory proposals, searching for bioprotectors (a self-overview). *International J. Nanomedicine.* 2015.
107. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A. et al. Enhancing Population's Resistance to Toxic Exposures as an Auxiliary Tool of Decreasing Environmental and Occupational Health Risks (a Self-Overview). *Journal of Environmental Protection.* 2014; 5: 1435-1449
108. Кацнельсон Б. А., Привалова Л. И. Гурвич, В. В., Кузьмин С. В., Киреева Е.П., И.А.Минигалиева и др. О роли биопрофилактики в системе мер управления профессиональными и экологическими обусловленными химическими рисками для здоровья населения. *Токсикологический Вестник.* 2015; 1: 10-21.

## REFERENCES:

1. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigaliev I.A. et al. Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (magnetite) nanoparticles. *Cent Eur J Occup Environ Med.* 2010; 16: 47-63.
2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S. et al. Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? *Int J Occup Environ Health.* 2010; 16: 508-524.
3. Katsnelson B.A., Degtyareva T.D., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Yeremenko O.S. et al. Sub-chronic systemic toxicity and bio-accumulation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nano- and microparticles following repeated intraperitoneal administration to rats. *Int J Toxicol.* 2011; 30: 60-67.
4. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Kireyeva E.P. et al. An approach to tentative reference levels setting for nanoparticles in the workplace air based on comparing their toxicity with that of their micrometric counterparts: A case study of iron oxide Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. *ISRN Nanotechnol.* 2012: 2012: 12.
5. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Khodos M.Y., Shur V.Y., Shishkina E.I. et al. Uptake of some metallic nanoparticles by, and their impact on pulmonary macrophages in vivo as viewed by optical, atomic force, and transmission electron microscopy. *J Nanomed Nanotechnol.* 2012; 3: 1-8.
6. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Tulakina L.G., Pichunova S.V., Beikin J.B. et al. The "in vivo" interaction between iron oxide Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and alveolar macrophages. *Bull Exp Biol Med.* 2012; 152: 627-631.
7. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin J.B. et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 2449-2483.
8. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E. et al. Subchronic Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles and Its Attenuation with the Help of a Combination of Bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2014; 15: 12379-12406. doi:10.3390/ijms150712379
9. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.B. et al. Some Characteristics of Free Cell Population in the Airways of Rats after Intratracheal Instillation of Copper-Containing Nano-Scale Particles Int. J. Mol. Sci. 2014; 15: 21538-21553; doi:10.3390/ijms151121538
10. Katsnelson B.A., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich

- V.B, Shur Ya.B., et al. Lower airways response in rats to a single or combined intratracheal instillation of manganese and nickel nanoparticles and its attenuation with a bio-protective pre-treatment. *Toxicol Vestnik*, 2014; No6; 8-14 (Russian)
11. Zhu M.T., Feng W.Y., Wang B., Wang T.C., Gu Y.Q., Wang Y. et al. Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron ferric oxide in rats. *Toxicol*; 2008; 247:102-111.
12. Mahmoudi M., Simchi A., Milani A.S., Stroeve P. Cell toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *J Colloid Interface Sci.* 2009; 336 (2): 510-518. doi: 10.1016/j.jcis.2009.04.046
13. Mahmoudi M., Laurent S., Shokrgozar M.A., Hosseinkhani M. Toxicity Evaluations of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles: Cell "Vision" versus Physicochemical Properties of Nanoparticles. *ACS Nano*. 2011; 5 (9): 7263-7276. doi: 10.1021/nn2021088
14. Naqvi S., Samim M., Abidin M.Z., Ahmed F.J., Maitra A.N., Prashant C.K. et al. Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *Int J Nanomedicine*. 2010; 5: 983 - 989. doi:http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S13244
15. Wu X., Tan Y., Mao H., Zhang M. Toxic effects of iron oxide nanoparticles on human umbilical vein endothelial cells. *Int J Nanomedicine*. 2010; 5: 385-399.
16. Singh N., Jenkins G.S., Asadi R., Doak S.H. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano Rev*. 2010; 1: 5358. doi: 10.3402/nano.v1i0.5358
17. Soenen S.J., De Cuyper M., De Smedt S.C., Braeckmans K. Investigating the toxic effects of iron oxide nanoparticles. *Methods Enzymol*. 2012; 509: 195-224. doi: 10.1016/B978-0-12-391858-1.00011-3
18. Liu G., Gao J., Ai H., Chen X. Applications and potential toxicity of magnetic iron oxide nanoparticles. *Small*. 2013; 9(9-10): 1533-45. doi: 10.1002/smll.201201531
19. Markides H., Rotherham M., El Haj A.J. Biocompatibility and Toxicity of Magnetic Nanoparticles in Regenerative Medicine. *J Nanomater*. 2012; 2012: 614094. doi: 10.1016/j.jcis.2009.04.046
20. Barhoumi L., Dewez D. Toxicity of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles on Green Alga *Chlorella vulgaris*. *BioMed Res Int*. 2013; 2013: 647974. doi: 10.1155/2013/647974
21. Ahamed M., Karns M., Goodson M., Rowe J., Hussain S.M., Schlager J.J. et al. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008; 233: 404-410.
22. Arora S., Jain J., Rajwade J.M., Paknikar K.M. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009; 236: 310-318.
23. Tricler W.J., Lantz S.M., Murdock R.C., Schrand A.M., Robinson B.L., Newport G.D. et al. Silver nanoparticle induced blood-brain barrier inflammation and increased permeability in primary rat brain micro vessel endothelial cells. *Toxicol Sci*. 2010; 118: 160-170.
24. Li T., Albee B., Alemayehu M., Diaz R., Ingham L., Kamal S. et al. Comparative toxicity study of Ag, Au, Ag-Au bimetallic nanoparticles on *Daphnia magna*. *Anal Bioanal Chem*. 2010; 398: 689-700.
25. Park E.-J., Bae E., Yi Y., Younghun K., Choi K., Lee S.H. et al. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nano-particles. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2010; 30: 162-168.
26. Park M.V., Neigh A.M., Vermeulen J.P., de la Fonteyne L.J., Verharen H.W., Biede J.J. et al. The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. *J Biomater*. 2011; 32: 9810-9817.
27. Choi J.E., Kim S., Ahn J.H., Youn P., Kang J.S., Park K. et al. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Aquat Toxicol*. 2010; 100: 151-159.
28. Kim Y.S., Song M.Y., Park J.D., Song R.S., Ryu H.R., Chung Y.H. et al. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part Fibre Toxicol*. 2010; 7: 20.
29. Ahmadi F., Kordestany A.H. Investigation on silver retention in different organs and oxidative stress enzymes in male broiler fed diet supplemented with powder of nano silver. *Am-Euras J Toxicol Sci*. 2011; 3: 28-35.
30. Stebounova L.V., Adamcakova-Dodd A., Kim J.S. Nanosilver induces minimal lung toxicity or inflammation in a subacute murine inhalation model. *Part Fibre Toxicol*. 2011; 8: 5.
31. Srivastava M., Singh S., Self W.T. Exposure to silver nanoparticles inhibits selenoprotein synthesis and the activity of thioredoxin reductase. *Environ Health Perspect*. 2011; 120: 56-61.
32. Hackenberg S., Scherzer A., Kessler M., Hummel S., Technau A., Froelich E. et al. Silver nanoparticles: Evaluation of DNA damage, toxicity and functional impairment in human mesenchymal stem cell. *Toxicol Lett*. 2011; 21: 27-33.
33. Foldbjerg R., Dang D.A., Autrup H. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549. *Arch Toxicol*. 2011; 85: 743-750.
34. Kim H.R., Kim M.J., Lee S.Y., Oh S.M., Chung K.H. Genotoxic effects of silver nanoparticles stimulated by oxidative stress in human normal bronchial epithelial (BEAS-2B) cells. *Mutat Res*. 2011; 726: 129-135.
35. Li Y., Chen D.H., Yan J., Chen Y., Mittelstaedt R.A., Zhang Y. et al. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and in vitro micronucleus assay. *Mutat Res*. 2012; 745: 4-10.
36. Tavares P., Balbino F., Martins de Oliveira H., Fugundes G.E., Vanancio M., Ronconi J.V.V. et al. Evaluation of genotoxic effect of silver nanoparticles (Ag-NPs) in vitro and in vivo. *J Nanopart Res*. 2012; 14: 791.
37. Asare N., Instanes C., Sandberg W.J., Refsnæs M., Schwarze P., Kruszewski M. et al. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cell. *Toxicology*. 2012; 291: 65-72.
38. Flower N.A.L., Brabu B., Revathy M., Gopalakrishnan C., Raja S.V.K., Murugan S.S. et al. Characterization of synthesized silver nanoparticles and assessment of its genotoxicity potentials using the alkaline comet assay. *Mutat Res*. 2012; 742: 61-65.
39. Karlsson H., Gliga A.R., Kohonen P., Wallberg P., Fadeel B. Genotoxicity and epigenetic effects of silver nanoparticles. *Toxicol Lett*. 2012; 211 (Supplement): S40.
40. Lim D-H., Jang J., Kim S., Kang T., Lee K., Choi I.H. The effects of sub-lethal concentrations of silver nanoparticles on inflammatory and stress in human macrophages using cDNA microarray analysis. *Biomaterials*. 2012; 33: 4690-4699.
41. Beer C., Foldbjerg R., Hayashi Y., Sutherland D.S., Autrup H. Toxicity of silver nanoparticles—Nanoparticle or silver ion? *Toxicol Lett*. 2012; 208: 286-292.
42. Cronholm P., Karlsson H.L., Hedberg J., Lowe T.A., Winnberg L., Elihn K. et al. Intracellular uptake and toxicity of Ag and CuO nanoparticles: A comparison between nanoparticles and their corresponding metal ions. *Small*. 2013; 8: 970-982.
43. Gomes T., Araújo O., Pereira R., Almeida A.C., Cravo A., Bebianno M.J. Genotoxicity of copper oxide and silver nanoparticles in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Environ Res*. 2013; 84: 51-59.
44. Ahamed M., AlSalhi M.S., Siddiqui M.K.J. Silver nanoparticles applications and human health. *Clin Chim Acta*. 2010; 411: 1841-1884.
45. Sanjay Singh, D'Britto V., Prabhune A.A., Ramana C.V., Dhawan A., Prasad B.L.V. Cytotoxic and genotoxic assessment of glycolipid-reduced and -capped gold and silver nanoparticles. *New J Chem*. 2011; 34: 294-301.
46. Bakri S.J., Pulido J.S., Mukerjee P., Marler R.J., Mukhopadhyay D. Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal nanogold in a rabbit model. *Retina* 2008; 28: 147-149.
47. Pan Y., Leifert A., Ruau D., Neuss S., Bormemann J., Schmid G. et al. Gold nanoparticles of diameter 1.4 nm trigger necrosis by oxidative stress and mitochondrial damage. *Small*. 2009; 5: 2067-2076.
48. Chen Y-Sh., Hung Y-Ch., Huang G.S. Assessment of the in vivo toxicity of gold nanoparticles. *Nanoscale Res Lett*. 2009; 4: 858-864.
49. Balasubramanian S.K., Jittiwat J., Manikandan J., Ong Ch-N., Yu L.E., Ong W-Y. Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats. *Biomaterials*. 2010; 31: 2034-2042.
50. Zhang Q., Hitchins V.M., Schrand A.M., Hussain S.M., Goering P.L. Uptake of gold nanoparticles in murine macrophage cells without cytotoxicity or production of proinflammatory mediators. *Nanotoxicology*. 2010; 5: 284-295.
51. Li J.J., Lo S.L., Ng C.T., Gurung R.L., Hartono D., Hande M.P. et al. Genomic instability of gold nanoparticle treated human lung fibroblast cells. *Biomaterials*. 2011; 32: 5515-5523.
52. Tricler W.J., Lantz S.M., Murdock R.C., Newport G.D., Oldenburg S.J., Paule M.G. et al. Brain microvessel endothelial cells responses to gold microparticles: In vitro pro-inflammatory mediators and permeability. *Nanotoxicology*. 2011; 5: 479-492.
53. Glazer E.S., Zhu C., Hamir A.N., Borne A., Thompson C.S., Curley S.A. Biodistribution and acute toxicity of naked gold nanoparticles in a rabbit hepatic tumor model. *Nanotoxicology*. 2011; 5: 459-468.
54. Mustafa T., Watanabe F., Monroe W., Mahmood M., Xu Y., Saeed L.M. et al. Impact of gold nanoparticle concentration on their cellular uptake by MC3T3-E1 mouse osteoblastic cells as analyzed by transmission electron microscopy. *J Nanomed Nanotechnol*. 2011; 2: 1-8.
55. Rudolf R., Friedrich B., Stopic S., Anzel I., Tomic S., C'olic M. Cytotoxicity of silver nanoparticles prepared by ultrasonic spray pyrolysis. *J Biomater Appl*. 2012; 26: 595-612.
56. Dykman L., Khlebtsov N. Gold nanoparticles in biomedical applications: Recent advances and perspectives. *Chem Soc Rev*. 2012; 41: 2256-2282.
57. Choi S.Y., Jeong S., Jang S.H., Park J., Ock K.S., Lee S.Y. et al. In vitro toxicity protein-adsorbed citrate-reduced gold nanoparticles in human lung adenocarcinoma cells. *Toxicol In Vitro*. 2012; 26: 229-237.
58. Shulz M., Ma-Hock L., Brill S., Strauss V., Treumann S., Gröters S. et al. Investigation on the genotoxicity of different sizes of gold nanoparticles administered to the lungs of rats. *Mutat Res*. 2012; 745: 51-57.
59. Bogoslovskaja O.A., Sizova O.A., Polyakova V.S., Miroshnikov S.A., Lypunskiy I.O. et al. A study on safety of administering copper nanoparticles with different physico-chemical characteristics to animal organism. *Vestnik OGU*. 2009; 2: 124 - 127 (Russian)
60. Chen Z., Meng H., Xing G., Chen C., Zhao Y., Jia G. et al. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol Lett*. 2006; 25: 109-120.
61. 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: 1726-1732.
62. Studer A.M., Limbach L.K., van Duc L., Krumeich F., Athanassiou E.K., Gerber L.C. et al. Nanoparticle cytotoxicity depends on intracellular solubility: comparison of stabilized copper metal and degradable copper oxide nanoparticles. *Toxicol Lett*. 2010; 1: 169-174.
63. Bondarenko O., Ivask A., Käkinen A., Kahru A. Sub-toxic effects of CuO nanoparticles on bacteria: Kinetics, role of Cu ions and possible mechanisms of action. *Environ Pollut*. 2012; 169: 81-89.
64. Pang C., Selck H., Misra S.K., Berhanu D., Dybowska A., Valsami-Jones E. et al. Effects of sediment-associated copper to the deposit-feeding snail, *Potamopyrgus antipodarum*: A comparison of Cu added in aqueous form or as nano- and micro-CuO particles. *Aquat Toxicol*. 2012; 15: 114-122.
65. Magaye R., Zhao J., Bowman L., Ding M. Genotoxicity and carcinogenicity of cobalt-, nickel- and copper-based nanoparticles. *Exp Ther Med*. 2012; 4: 551-561.
66. Alarifi S., Ali D., Verma A., Alakhtani S., Ali B.A. Cytotoxicity and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in human skin keratinocytes cells. *Int J Toxicol*. 2013; 32: 296-307.
67. Xu J., Li Z., Xu P., Xiao L., Yang Z. Nanosized copper oxide induces apoptosis through oxidative stress in podocytes. *Arch Toxicol*. 2013; 87: 1067-1073.
68. Cuillel M., Chevallet M., Charbonnier P., Fauquant C., Pignot-Paintrand I., Arnaud J. et al. Interference of CuO nanoparticles with metal homeostasis in hepatocytes under sub-toxic conditions. *Nanoscale*. 2014; 16: 1707-1715.
69. Zhang Q., Yukinori K., Sato K., Nakakuki K., Koyahama N., Donaldson K. Differences in the extent of inflammation caused by intratracheal exposure to three ultrafine metals: Role of free radicals. *J. Toxicol. Environ. Health*. 1998; 53: 423-438.
70. Zhang Q., Yukinori K., Zhu X., Sato K., Mo Y., Kluz T., Donaldson K. Comparative toxicity of standard nickel and ultrafine nickel after intratracheal instillation. *J. Occup. Health*. 2003; 45: 23-30.
71. Magaye R. and Zhao. Recent progress in studies of metallic nickel and nickel-based nanoparticles' genotoxicity and carcinogenicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2012; 34(3): 644-650.
72. Morimoto Y., Hirohashi M., Ogami A., Oyabu T., Myojo T., Hashiba M. et al. Pulmonary toxicity following an intratracheal instillation of nickel oxide nanoparticle agglomerates. *Journal of Occupational Health*. 2011; 293-295
73. Capasso L., Camatini M., Gualtieri M. Nickel oxide nanoparticles induce inflammation and genotoxic effect in lung epithelial cells. *Toxicol Lett*. 2014; Apr7: 226(1): 28-34. doi: 10.1016/j.toxlet.2014.01.040.
74. Saber M., Hussain S.M., Javorina A.K., Schrand A.M., Duhart H.M. et al. The Interaction of Manganese Nanoparticles with PC-12 Cells Induces Dopamine Depletion. *Tox Sciences*. 2006; 92(2): 456-463
75. Singh S.P., Kumari M., Kumari S.I., Rahman M.F., Mahboob M., Grover P. Toxicity assessment of manganese oxide micro and nanoparticles in Wistar rats after 28 days of repeated oral exposure. *J Appl Toxicol*. 2013; Oct 24; 33(10):1165-1179.
76. Zaitseva N.V., Zemlyanova N.V., Zemlyanova M.A., Zvesdin V.N. et al. Toxicological-hygiene assessment of the nano- and micrometric manhanese (III, IV) oxide safety. *Voprosy Pitaniya*. 2012; 5: 13-19 (Russian)
77. Katsnelson B.A., Konysheva L.K., Privalova L.Y., Morosova K.I. Development of a multicompartmental model of the kinetics of quartz dust in the pulmonary region of the lung during chronic inhalation exposure of rats. *Brit J Ind Med*.

1992; 49:172-181.

78. Geiser M., Kreyling W.G. Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles. Part Fibre Toxicol. 2010; 7(2): doi:10.1186/1743-8977-7-2

79. Task Group. ICRP Publication 66: Human respiratory tract model for radiological protection. A report of a Task Group of the International Commission on Radiological Protection. Ann ICRP. 1994; 24: 1-482.

80. Kreyling W.G., Geiser M. Dosimetry of inhaled nanoparticles. In: Marijnissen J.C., Gradon L., editors. Nanoparticles in Medicine and Environment, Inhalation and Health Effects. Berlin, Germany: Springer. 2009; 145-173.

81. Fröhlich E., Salar-Bezhadi S. Toxicological assessment of inhaled nanoparticles: Role of in vivo, ex vivo, in vitro, and in silico studies. Int J Mol Sci. 2014; 15: 4795-4822.

82. Sadauskas E., Wallin H., Stolenberg M., Vogel U., Doering P., Larsen A. et al. Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism. Part Fibre Toxicol. 2007; 4: 10-16. doi: 10.1186/1743-8977-4-10

83. Lasagna-Reeves C., Gonzalez-Romero D., Barria M.A., Olmedo I., Clos A., Sadagopa Ramanujam V.M. et al. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. Biochem Biophys Res Commun. 2010; 393: 649-655.

84. Donaldson K., Stone V., Tran C.K., Kreyling W., Borm P.J. Nanotoxicology (editorial). Occup Environ Med. 2004; 61: 727-728.

85. Oberdörster G., Oberdörster E., Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studied of ultrafine particles. Environ Health Persp. 2005; 113: 823-839.

86. Fadeel B. Clear and present danger? Engineered nanoparticles and the immune system. Swiss Med Wkly. 2012;

142:w13609

87. Kilburn K.H. Alveolar clearance of particles. A bullfrog lung model. Arch Environ Health. 1969; 18:556-563.

88. Renwick L., Brown D., Clouter K., Donaldson K. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types. Occup Environ Med. 2004; 61: 442-447.

89. Stoeger T., Reinhard C., Takenaka Sh., Schroepel A., Karg E., Ritter B. et al. Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice. Environ Health Perspect. 2006; 114(3): 328-333.

90. Grassian V.H., O'Shaughnessy P.T., Adamcakova-Dodd A., Pettibone J.M., Thorne P.S. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. Environ Health Perspect. 2007; 115: 397-402.

91. Sager T.M., Porter D.W., Robinson V.A., Lindsley W.G., Schwegler-Berry V.A., Castranova V. Improved method to disperse nanoparticles in vitro and in vivo investigation of toxicity. Nanotoxicol. 2007; 1: 118-129.

92. Warheit D.B., Reed K.L., Sayes C.M. A role for surface reactivity in TiO<sub>2</sub> and quartz-related nanoparticle pulmonary toxicity. Nanotoxicol. 2009; 3: 181 - 187.

93. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Osipenko A.B., Yushkov B.H., Babushkina L.G. Response of a phagocyte cell system to products of macrophage breakdown as a probable mechanism of alveolar phagocytosis adaptation to deposition of particles of different cytotoxicity. Environ Health Perspect. 1980; 35: 205-218.

94. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Yelichnykh L.N. Some peculiarities of the pulmonary phagocytotic response, dust kinetics, and silicosis development during long term exposure of rats to high quartz levels. Brit J Ind Med. 1987; 44:

228-235.

95. Katsnelson B.A., Privalova L.I. Recruitment of phagocytizing cells into the respiratory tract as a response to the cytotoxic action of deposited particles. Environ Health Perspect. 1984; 55: 313-325.

96. Katsnelson B.A., Konysheva L.K., Sharapova N.Y., Privalova L.I. Prediction of the comparative intensity of pneumoconiotic changes caused by chronic inhalation exposure to dusts of different cytotoxicity by means of a mathematical model. Occup Environ Med. 1994; 51:173-180.

97. Katsnelson B.A., Konysheva L.K., Privalova L.Y., Sharapova N.Y. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartmental model: Further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles. Inhalat Toxicol. 1997; 9: 703-715.

98. Fröhlich E. Cellular targets and mechanisms in the cytotoxic action of non-biodegradable engineered nanoparticles. J Curr Drug Metab. 2013; 14: 976-988.

99. Manke A., Wang L., on Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. Review article. BioMed Research International. 2013; 2013: Article ID 942916. 15

100. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sharapova N.Y., Kisilitsina N.S. On the relationship between activation and the breakdown of macrophages in pathogenesis of silicosis. Med Lav. 1995; 86: 511-521.

101. Yokel R.A., MacPhail R.C. Engineered nanomaterials: exposures, hazards, and risk prevention. J Occup Med Toxicol.2011; 6: 7. doi:10.1186/1745-6673-6-7.

102. Murashov V., Shulte P., Geraci C., Howard J. Regulatory approaches to worker protection in nanotechnology

industry in the USA and European Union. Industr Health. 2011; 49: 280-296.

103. Grosco A., Petri-Fink A., Magrez A., Rediker M., Meyer T. Management of nanomaterials safety in research environment. Part Fibre Toxicol. 2010; 7: 40. doi: 10.1186/1743-8977-7-402010.

104. van Broekhuizen P. Dealing with uncertainties in the nanotech workplace practice: making the precautionary approach operational. J Biomed Nanotechnol. 2011; 7: 15-17.

105. CDC and NIOSH. Current Intelligence Bulletin 63: Occupational Exposure to Titanium Dioxide. US Department of Health and Human Services. NIOSH 2011.

106. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Minigalieva I.A., Loginova N.V., et al. Some inferences from in vivo experiments with metal and metal oxide nanoparticles: the pulmonary phagocytosis response, subchronic systemic toxicity and genotoxicity, regulatory proposals, searching for bioprotectors (a self-overview). International J. Nanomedicine. 2015.

107. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigalieva I.A. et al. Enhancing Population's Resistance to Toxic Exposures as an Auxiliary Tool of Decreasing Environmental and Occupational Health Risks (a Self-Overview). Journal of Environmental Protection. 2014; 5: 1435-1449

108. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigalieva I.A. et al. The part taken by the bio-prophylaxis in the system of occupational and environmental population health risks management. Tox Vestnik. 2015; 1: 10-21. (Russian)

109.

B.A. Katsnelson<sup>1</sup>, L.I. Privalova<sup>1</sup>, M.P. Sutunkova<sup>1</sup>, V.B. Gurvich<sup>1</sup>, I.A. Minigalieva<sup>1</sup>, N.V. Loginova<sup>1</sup>, E.P. Kireyeva<sup>1</sup>, V.Y. Shur<sup>2</sup>, E.V. Shishkina<sup>2</sup>, Y.B. Beikin<sup>3</sup>, S.V. Pichugova<sup>3</sup>, O.H. Makeyev<sup>4</sup>, I.E. Valamina<sup>4</sup>

## MAIN RESULTS OF TOXICOLOGICAL EXPERIMENTS *IN VIVO* WITH SOME METAL AND METAL OXIDES NANOPARTICLES

<sup>1</sup>Ekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Ekaterinburg 620014, Russian Federation

<sup>2</sup>Institute of Natural Sciences, Ural Federal University, Ekaterinburg 620083, Russian Federation

<sup>3</sup>City Clinical Diagnostics Centre, 620142 Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>4</sup>Ural State Medical University, Ekaterinburg 620028, Russian Federation

The paper summarizes main results of the authors' *in vivo* toxicological experiments on rats exposed to either a single intratracheal instillation or to repeated intraperitoneal injections of nanoparticles (NP) of silver, gold, iron oxide, copper oxide, nickel oxide and manganese oxide in stable water suspensions without any chemical additives.

It was found out that these NPs were much more noxious on both cellular and organ-systemic levels as compared to their own micrometric or even submicron counterparts. However, the dependence of organ-systemic toxicity on particle sizes within the nanometer range is intricate and non-unique due to complex and often contra-directional relationships between the intrinsic biological aggressiveness of specific nanoparticles, on the one hand, and complex mechanisms governing their toxicokinetics, on the other.

Our data testify to a high activity of the pulmonary phagocytosis of nanoparticles deposited in airways. This fact suggests that safe levels of exposure to airborne nanoparticles are possible in principle. An approach is considered to establish provisional standards for such an exposure based on about 10-15-fold decreased exposure as compared to limits which are officially set for respective micro-scale industrial aerosols.

It was shown that against the background of adequately composed combinations of some bioactive agents (comprising pectin, multivitamin-multimineral preparations, some amino acids, and omega-3 PUFA), the systemic toxicity and genotoxicity of metallic NPs could be markedly attenuated.

**Keywords:** metallic nanoparticles, toxicity, protection.

Материал поступил в редакцию 25.03.2015 г.